

Aus dem Institut für Medizinische Mikrobiologie, Virologie und Hygiene

Direktor: Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. Andreas Podbielski

**Keimspektrum auf patientennahen Griffflächen zweier Intensivstationen der
Universitätsmedizin Rostock**

Inauguraldissertation

zur

Erlangung des akademischen Grades

Doktor der Medizin

der Universitätsmedizin Rostock



vorgelegt von

Sebastian Bachert, geboren am 04. Mai 1984 in Leipzig

aus Leipzig

Rostock, 30.05.2016

Dekan: Prof. Dr. med. Emil Christian Reisinger

1. Gutachter: Prof. Dr. rer. nat. et rer. medic. habil. Lutz Jatzwauk
Zentraler Bereich Krankenhaushygiene und Umweltschutz
Universitätsklinikum Carl Gustav Carus
Fetscherstraße 74,
01307 Dresden
2. Gutachter: Prof. Dr. med. Wulf Schneider
Institut für Klinische Mikrobiologie und Hygiene
Direktor: Prof. Dr. Dr. André Gessner
Franz-Josef-Strauß-Allee 11
93053 Regensburg
3. Gutachter: Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. Andreas Podbielski
Universitätsmedizin Rostock
Institut für Medizinische Mikrobiologie, Virologie und Hygiene
Schillingallee 70
18057 Rostock

Datum der Einreichung: 30.05.2016

Datum der Verteidigung: 05.07.2017

Inhaltsverzeichnis

1 Einleitung.....	5
1.1 Geschichtlicher Hintergrund	5
1.2 Hygiene als Bestandteil der Patientenversorgung	5
1.3 Bakterien als wesentlicher Teil der physiologischen Hautflora	6
1.4 Aktuelle Studienlage.....	6
1.5 Zielsetzungen der Arbeit	8
2 Material und Methoden	10
2.1 Sensitivitätsmessung	10
2.1.1 Vorbereitung der Arbeitsmaterialien	11
2.1.2 Herstellen einer Bakterienreinkultur und Feststellung der Bakterienkonzentration	11
2.1.3 Vorbereitung der gezielt zu kontaminierenden Arbeitsfläche	12
2.1.4 Herstellung einer <i>S.-epidermidis</i> -Suspension mit definierter Bakterienkonzentration	13
2.1.5 Gezielte Kontamination der Arbeitsfläche mit <i>S. epidermidis</i>	14
2.1.6 Herstellung einer <i>S.-aureus</i> -Suspension mit definierter Bakterienkonzentration.....	15
2.1.7 Herstellung einer Mischsuspension aus <i>S. epidermidis</i> und <i>S. aureus</i> mit definierter Bakterienkonzentration.....	15
2.1.8 Anfertigen rasterelektronenmikroskopischer Aufnahmen der Reinkulturen von <i>S.</i> <i>epidermidis</i> und <i>S. aureus</i> und einer Mischsuspension im Verhältnis 10 : 1	16
2.2 Feldversuche.....	17
2.2.1 Durchführung der Abstriche auf den Stationen	17
2.2.2 Aufbereitung der Abstrichtupfer	18
2.2.3 Auswertung der bebrüteten Platten	19
2.3 Materialliste	20
2.3.1 Chemikalien	20
2.3.2 Verbrauchsmaterialien	20
2.3.3 Geräte	22
2.4 Statistik.....	22
3 Ergebnisteil	23
3.1 Ergebnisse der Vorversuche	23
3.1.1 Ergebnisse der Vorversuche mit <i>S. epidermidis</i>	24
3.1.2 Ergebnisse der Vorversuche mit <i>S. aureus</i>	28
3.1.3 Ergebnisse der Vorversuche mit Mischsuspension aus <i>S. epidermidis</i> und <i>S. aureus</i>	32
3.1.4 Rasterelektronenmikroskopische Bilder	37
3.2 Ergebnisse der Feldversuche	39
3.2.1 Qualitatives Bakterienspektrum auf den untersuchten Stationen	40

3.2.2 Quantitative Untersuchung der KnS auf den Griffflächen	44
3.2.3 Detaillierte Betrachtung der Flächen mit den höchsten Bakterienkonzentrationen.....	49
4 Diskussion	62
4.1 Vorversuche im Labor.....	63
4.1.1 Auswahl der Testkeime	63
4.1.2 Zusammenfassung der Vor Versuchsergebnisse	63
4.1.3 Der Tupfer als Untersuchungsinstrument.....	64
4.2 Feldversuche auf den untersuchten Intensivstationen.....	65
4.2.1 Aufarbeitung der gewonnenen Proben.....	65
4.2.2 KnS als der Teil der Hautflora	66
4.2.3 Ergebnisse der Felduntersuchungen	67
4.2.3 Quantitative Keimbelastung auf patientennahen Griffflächen.....	68
4.2.4 Computertastaturen als Vektor für die Keimverteilung im patientennahen Umfeld	69
4.3 Verbesserungspotential im Bereich der angewandten Hygiene.....	70
5 Zusammenfassung.....	73
6 Literatur	75

1 Einleitung

1.1 Geschichtlicher Hintergrund

Die Existenz von Bakterien und deren ätiologische Bedeutung für Infektionskrankheiten beim Menschen wurde seit den ersten Entdeckungen durch Robert Koch (Fraenkel, 1882) in den folgenden Jahrzehnten zunehmend durch die medizinische Fachwelt akzeptiert. Die Funktion der Hände des medizinischen Personals für die Übertragung von Krankheitserregern wurde zum Beispiel eindrücklich von Ignaz Semmelweis nachgewiesen (Reis, 1959). Ein entscheidender Schritt für die Akzeptanz der Händedesinfektion beim medizinischen Personal als Maßnahme gegen die Keimübertragung war die Einführung alkoholischer Händedesinfektionsmittel, die schneller und effizienter als die zuvor verwendeten Mittel wirkten und dabei die Integrität der behandelten Haut besser wahrten (Marchetti et al., 2000; Pittet et al., 2000).

Auch ohne konkretes Wissen um Bakterien versuchten in der Krankenversorgung engagierte Menschen (allen voran Florence Nightingale) das patientennahe Umfeld so zu gestalten, dass eine weitere Ausbreitung von Krankheiten möglichst verhindert werden konnte (Ellis, 2008). In der Folge wurden Konzepte zur Reinigung und Desinfektion sowohl der Hände als auch der Oberflächen im patientennahen Umfeld ausgearbeitet und seitdem häufig modifiziert (Exner und Hartemann, 2004; Conrad, 2004).

1.2 Hygiene als Bestandteil der Patientenversorgung

Das Infektionsschutzgesetz gibt verbindlich vor, dass jedes Krankenhaus über eine Hygieneordnung verfügt. Die Umsetzung der dort festgelegten Maßnahmen wird (je nach Größe des Hauses) durch (interne oder auch externe) Hygienefachkräfte und Fachärzte für Mikrobiologie/ Hygiene überwacht. Dabei kommt neben den Händen des medizinischen Personals dem patientennahen Umfeld eine besondere Bedeutung im Sinne einer Keimquelle bzw. häufiger einer Zwischenablage für Keime zu (Christiansen et al., 2004).

Die wichtigste Präventionsmaßnahme der Hygiene ist die Händedesinfektion, weil die Hände letztlich für Kontakt-übertragene Erreger das entscheidende Vehikel für die Keimübertragung auf den Patienten bzw. das Verschmieren von auf dem Patienten vorhandenen Keimen zu bisher nicht kontaminierten/ besiedelten anatomischen Orten sind. Die Weltgesundheitsorganisation (WHO) propagiert in diesem Zusammenhang die 5 Momente der Händedesinfektion: 1.) die Händedesinfektion vor Patientenkontakt; 2.) die Händedesinfektion vor aseptischen Tätigkeiten; 3.)

die Händedesinfektion nach Kontakt mit potentiell infektiösem Material; 4.) die Händedesinfektion nach Patientenkontakt; 5.) die Händedesinfektion nach Kontakt mit Oberflächen in unmittelbarer Umgebung des Patienten (WHO, 2014). Punkt 1, 3, 4 und 5 heben darauf ab, dass Erreger mit den Händen auf patientennahe Oberflächen von Medizinprodukten und Einrichtungsgegenständen aufgebracht werden und zu einem späteren Zeitpunkt wiederum durch Handkontakt von dort aufgelesen und dann auf den Patienten, medizinisch Tätigen oder unbeteiligte dritte Personen übertragen werden können.

Zusätzlich zur Händedesinfektion vor und nach dem Kontakt mit solchen Flächen oder Gegenständen werden eben diese Griffflächen in der Patientenumgebung regelhaft desinfizierend gereinigt, um trotz der Händedesinfektion kontaminierte Oberflächen von der Keimlast zu befreien und damit die Gefahr der Keimübertragung auf die Patienten weiter zu minimieren (Christiansen et al., 2004). Eine Modifikation der Oberflächen hin zu einer glatten, Feuchtigkeits- und Chemikalien-beständigen Struktur erleichtert und unterstützt die Flächenhygiene (Po et al., 2009; Wilson et al., 2008). Damit können flächenhygienische Maßnahmen die Übertragung mikrobieller Pathogene unterbrechen und so eine Verbesserung der öffentlichen Gesundheit fördern (Cozad und Jones, 2003).

1.3 Bakterien als wesentlicher Teil der physiologischen Hautflora

Mitte des letzten Jahrhunderts konnte die menschliche Standortflora erstmals genauer klassifiziert und z.T. auch quantifiziert werden (Evans et al., 1950). Seitdem ist klar, dass wesentliche aerob wachsende Vertreter der physiologischen Hautflora die Koagulase-negativen Staphylokokken (KnS) sind. Ihnen kommt eine bedeutende Rolle bei der Aufrechterhaltung der Schutzfunktion der gesunden Haut zu, z.B. durch Bereitstellung saurer Fermentationsprodukte, Produktion antibakterieller Substanzen und durch die Stimulation der lokalen Abwehr (Otto, 2012). Die Bedeutung der Hautflora zeigt sich beispielsweise im Kollektiv immunsupprimierter Patienten. Bei diesen führen die häufigen Krankenhausaufenthalte sowie die zum Schutz prophylaktisch verabreichten Antibiotika zu einer gestörten Zusammensetzung der residenten Mikroflora und dies wiederum zu nosokomialen Pilzinfektionen (Savoia et al., 2016).

1.4 Aktuelle Studienlage

In der seit dem Jahr 2004 nicht aktualisierten Empfehlung des Robert Koch Institutes (RKI) über die „Anforderungen an die Hygiene bei der Reinigung und Desinfektion von Flächen“ wird die insgesamt

dürftige Studienlage bezgl. der Evidenz von Flächendesinfektion im patientennahen Umfeld bemängelt. Es konnten lediglich vier Studien identifiziert werden, welche sich ausschließlich mit der Desinfektion patientenferner Flächen (wie Fußböden und Möbel) beschäftigten (Christiansen et al., 2004). Dezidierte Studien zur Untersuchung patientennaher Griffflächen wurden nicht angegeben.

Seitdem wurde in einigen Studien das „patientennähere“ Umfeld hinsichtlich des Effektes desinfizierender Reinigung untersucht. Han und Kollegen zitierten in ihrem Review (Han et al., 2015) 76 zumeist nach dem Jahr 2004 zu diesem Themenkomplex publizierte Studien. Jedoch befasste sich keine der aufgeführten Arbeiten ausschließlich mit der in der vorliegenden Arbeit untersuchten Zusammenstellung von Griffflächen. Zudem untersuchte die Mehrzahl der von Han et al. vorgestellten Arbeiten die Effekte desinfizierender Reinigung in Hinblick auf Erreger nosokomialer Erkrankungen wie MRSA (Methicillin-resistenter *Staphylococcus aureus*), VRE (Vancomycin-resistente Enterokokken) oder *Clostridium difficile*.

Die im Review genannte Arbeit von Sigler und Hensley (2013) befasste sich stattdessen ausschließlich mit Staphylokokken. So konnten die Autoren unter Verwendung eines Abstrichtupfers und anschließender Aufarbeitung des abgestrichenen Materials mittels Polymerase Kettenreaktion (PCR) die unterschiedlichen Staphylokokken-Arten auf den von ihnen getesteten Flächen differenzieren, wobei hauptsächlich *S. epidermidis* neben anderen Staphylokokken wie *S. campsis* oder *S. lugdunensis* und andere Spezies auf allen Flächen vor und nach desinfizierender Reinigung detektiert wurden. Allerdings beschränkten sich die Autoren auf qualitative Untersuchungen. Friedman und Kollegen (2013) untersuchten die von ihnen ausgewählten patientennahen Flächen (u.a. Patientenfernbedienung, Patiententelefon, Handgriffe des Patientenschanks, Toilettentürklinke, Toilettenlichtschalter, Toilettenspülung) mittels einer Abstrichmethode, wie sie auch in der vorliegenden Arbeit zum Einsatz kam. Die gewonnenen Proben wurden allerdings ausschließlich auf Selektivmedien für Vancomycin-resistente Enterokokken (VRE) bebrütet. So konnte weder eine quantitative noch nur eine qualitative Aussage zum Keimspektrum der jeweiligen Grifffläche gemacht werden. Schmidt et al. (2012) fanden, dass Staphylokokken das Gros der Keime auf patientennahen Griffflächen repräsentieren, und zwar in Mengen zwischen 1.000 und 10.000 Kolonie-bildenden Einheiten pro Quadratzentimeter (KBE/ cm²). Zudem konnten sie nachweisen, dass v.a. auf der Bettplatztastatur und der dazugehörigen PC-Maus wiederum zwischen 1.000 und 10.000 KBE/ cm² Gram-negative Keime zu finden sind. Ferner konnten sie in Ihrer Studie zeigen, dass die Verwendung von Kupfer als Oberflächenmaterial für die entsprechenden Griffflächen die Keimzahl signifikant reduziert und dann fast nur noch Staphylokokken in Keimzahlen zwischen 100 und 1000 KBE/ cm² nachweisbar waren.

John M. Boyce konnte in seinem Review (2016) zeigen, dass an der klassischen händischen Flächendesinfektion (so sie denn richtig und entsprechend der Herstellerangaben, sowie den Richtlinien der jeweiligen Hygieneordnung durchgeführt werden) kein Weg vorbeiführt. Dabei zeigten neuere Untersuchungen mit Kupfer- oder Silber-beschichteten Oberflächen, sowie die Anwendung spezieller Desinfektionsmittel mit verlängerter Remanenzwirkung, dass die Erregerlast auf patientennahen Griffflächen deutlich reduziert und somit die Patientensicherheit erhöht werden können. Zudem stellen neue „No-Touch“-Desinfektionsmaßnahmen, wie die Nutzung von ultraviolettem Licht oder die Verdampfung von Wasserstoffperoxid interessante (wenn auch nicht in jedem Fall in Anwesenheit des Patienten durchführbare) zusätzliche Maßnahmen dar.

Wiemken et al. (2014) machten deutlich, dass die Compliance hinsichtlich gründlicher und hinreichend häufiger desinfizierender Flächenreinigung immer wieder geprüft und verbessert werden muss bzw. kann. So war die Umsetzung der desinfizierenden Flächenreinigung hinsichtlich Gründlichkeit und Frequenz bei Nutzung von Einmaldesinfektionstüchern signifikant höher, als bei der Nutzung von klassischen „Eimer und Lappen“-Kombinationen. Zudem konnte belegterweise auch eine Kostenreduktion durch Zeitersparnis von qualifizierten Arbeitskräften erreicht werden.

1.5 Zielsetzungen der Arbeit

In der vorliegenden Arbeit sollte die Erregerlast auf Griffflächen von zwei Intensivstationen (einer internistischen und einer chirurgisch / anästhesiologisch ausgerichteten Intensivstation) der Rostocker Universitätsmedizin untersucht werden, also klinischen Bereichen, in welchen die unkontrollierte Präsenz pathogener Erreger zu erheblichen gesundheitlichen Folgen für die dort behandelten Patienten führen können. Griffflächen in der näheren Patientenumgebung stehen hier besonders im Fokus, da sie sowohl als Reservoir als auch als kurzfristig kontaminierte Zwischenablage pathogener Keime fungieren können. Die Hände des dort beschäftigten Personals spielen dabei eine wesentliche Rolle bei der Übertragung dieser potentiell pathogenen Erreger, da sie mit den Erregern belastet die Kontamination der Griffflächen überhaupt erst bedingen bzw. durch Berühren einer kontaminierten Fläche die Erreger von dort aus verbreiten können (Gebel et al., 2013).

„Despite their best intentions, healthcare workers sometimes act as vectors of disease, disseminating new infections among their unsuspecting patients.“ (Sacar et al., 2006, S. 606).

Dieser Umstand unterstreicht zweierlei: die korrekt durchgeführte Händehygiene verhindert sowohl die Kontamination von Flächen und als auch die Erregerverbreitung ausgehend von kontaminierten Flächen und eine regelmäßig durchgeführte effiziente Flächendesinfektion kann zumindest theoretisch

einen Teil der Händehygienefehler kompensieren. Unklar ist dabei in den meisten Fällen wie ausgiebig eine Flächendesinfektion wirkt und wie lange die Wirkung anhält. Beide Punkte sollten in dieser Arbeit exemplarisch untersucht werden.

Besonderes Augenmerk erfuhr hierbei die Präanalytik, d.h. die sorgfältige Auswahl der zu untersuchenden Griffflächen, sowie eine reproduzierbare Ergebnisse liefernde Untersuchungstechnik. Die zum Thema Wirkung der Flächendesinfektion existierende Literatur ist a priori nicht sehr reichhaltig und den hier in den Vordergrund gerückten Fragen wurde in den Publikationen keine Rechnung getragen (s.o.). Deshalb wird dem Punkt „Präanalytik“ im ersten Teil dieser Arbeit ein großer Abschnitt gewidmet. Für die Versuche wurden zum einen *S. epidermidis* als typischer Vertreter der Hautflora (Becker et al., 2014), zum anderen *S. aureus* als klassischer Vertreter pathogener Keime (Rosenbach, 1884) genutzt. Mit den beiden Stämmen jeweils alleine und Mischungen aus beiden wurde zunächst unter definierten Laborbedingungen die zu reproduzierbaren Ergebnissen führende Probennahme eingeübt und die Testsensitivität ermittelt.

Anschließend wird die im Labor erprobte Untersuchungstechnik auf zuvor von den Hygienefachkräften ausgewählten Griffflächen zweier Intensivstationen der Universitätsmedizin Rostock angewendet. Die Tupfer werden in gleicher Weise wie zuvor im Labor erprobt aufgearbeitet und die Keimmenge, sowie das Spektrum der Keime auf den zu untersuchenden Flächen ermittelt. Hierfür werden klassische mikrobiologische Techniken, d.h. makroskopische Beurteilung der gewachsenen Kolonien auf den beimpften Agar-Platten nach Bebrütung, sowie Katalase-Verhalten, KOH-Test, Oxidase-Schnelltest und die mikroskopische Beurteilung im Gram-Präparat angewandt. Falls Kolonien mit den genannten Untersuchungsmethoden verdächtig für pathogene Spezies erschienen, wurde die definitive Speziesdiagnose mittels einer massenspektrometrischen Untersuchung erzielt.

Für beide untersuchten Intensivstationen sollten zum einen das Keimspektrum, zum anderen die Keimmengen auf den unterschiedlichen Griffflächen eruiert werden. Die Ergebnisse von den drei am stärksten mit Keimen belasteten Griffflächen sollten eine detaillierte statistische Aufarbeitung hinsichtlich der Keimmengen vor und nach Reinigung der jeweiligen Grifffläche erfahren. Damit sollte die Wirkung und Nachhaltigkeit der desinfizierenden Reinigung von Griffflächen auf diesen Intensivstationen dokumentiert werden. Zum Vergleich sollten exemplarisch die Hände einiger Mitarbeiter der jeweiligen Station abgestrichen und nach mikrobiologischer Analytik das Keimspektrum des Personals kursorisch erfasst werden.

2 Material und Methoden

Die Versuche der vorliegenden Arbeit lassen sich zum einen in die im Labor durchgeführten Vorversuche und zum anderen in die auf den ausgewählten Intensivstationen der Universitätsklinik Rostock genommenen Proben gliedern.

Gegenstand der Vorversuche waren Etablierung und Optimierung der mikrobiologischen Untersuchung einer definiert großen, gewollt kontaminierten Fläche sowie die Bestimmung der Sensitivitätsgrenze des für alle Untersuchungen verwendeten Abstrichtupfertyps.

2.1 Sensitivitätsmessung

Alle genannten Vorversuche dieser Arbeit, insbesondere die Sensitivitätsmessung, wurden mit zwei Staphylokokken-Stämmen durchgeführt: *Staphylococcus epidermidis* (DSM 1798) (im Folgenden „*S. epidermidis*“ genannt) und *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) (im Folgenden „*S. aureus*“ genannt). Diese Stämme wurden der Stammsammlung des Varia-Labors im Institut für Medizinische Mikrobiologie, Virologie und Hygiene der Universität Rostock entnommen.

Die Sensitivität des Tupferabstrichverfahrens wurde folgendermaßen ermittelt:

Auf einer desinfizierten Arbeitsfläche eines PVC-beschichteten Labortischs wurden mehrere Quadrate mit einer definierten Bakterienmenge gleichmäßig beimpft und nach dem vollständigen Eintrocknen der aufgetragenen Suspension die einzelnen Quadrate mit Tupfern (Sarstedt Viskosetupfer, neutral, steril, ohne Transportmedium) vollständig abgestrichen. Die Tupfer wurden anschließend in einer definierten Menge steriler Kochsalzlösung ausgewaschen. Aus den so hergestellten Suspensionen wurden unterschiedliche Verdünnungsstufen auf Agar-Platten ausplattiert. Die Lebendkeimzahlen (gemessen als Koloniebildende Einheiten, KBE) wurden nach 24 Stunden Bebrütung ausgezählt. Für eine statistische Bewertung der Ergebnisse wurde der beschriebene Versuchsablauf für *S. aureus* und *S. epidermidis* jeweils fünfmal an unterschiedlichen Tagen wiederholt. Da im Feldversuch nicht von Reinkulturen auf den zu untersuchenden Oberflächen ausgegangen werden kann, wurde zudem in einer weiteren Versuchsreihe eine Mischsuspension von *S. aureus* und *S. epidermidis* im Verhältnis 1 : 10 aufgetragen, abgestrichen und ausplattiert. Auch diese Versuchsserie wurde fünfmal wiederholt.

2.1.1 Vorbereitung der Arbeitsmaterialien

Zunächst wurden für die folgenden Versuche Agar-Platten aus Caso-Buillon-Agar (CB-Agar) vorbereitet. Hierfür wurde aus 22,5 g CB-Medium-Pulver, 11,25 g „Technical Agar 3“-Pulver und 750 ml sterilen Wassers die Agar-Grundsubstanz hergestellt, autoklaviert und anschließend unter einer Abluft-Bank auf die Agar-Platten verteilt.

Außerdem wurde aus 22,5 g CB-Medium-Pulver und 750 ml sterilen Wassers ein Nährmedium für die o. g. Bakterien hergestellt. Dieses CB-Nährmedium sowie die für die Verdünnungsstufen verwendete PBS-Puffer-Lösung wurden vor der Benutzung durch Autoklavieren sterilisiert.

2.1.2 Herstellen einer Bakterienreinkultur und Feststellung der Bakterienkonzentration

Um für die Sensitivitätsmessung definierte Bakterienmengen zur Verfügung zu haben, wurde mit den *S.-epidermidis*- und *S.-aureus*-Stämmen je eine Übernachtskultur hergestellt. Hierzu wurde CB-Medium mit dem zu untersuchenden Bakterienstamm beimpft und über Nacht bebrütet. Am Folgetag wurden aus dieser Suspension drei Milliliter abgenommen und in frisches Nährmedium umgesetzt. Diese Suspension wurde wieder für sieben Stunden bebrütet, sodass sich die Bakterien in der frühstationären Phase ihres Wachstumszyklus befanden (vgl. Warnke et al., 2014).

Danach wurden die Kulturen für 10 Minuten zentrifugiert, der Überstand des CB-Mediums wurde verworfen. Das verbliebene Sediment wurde mit zehnprozentiger Phosphatgepufferter Kochsalzlösung (phosphate buffered saline, PBS-Puffer) aufgeschwemmt („hochkonzentrierte Suspension“). Ein Milliliter des Reinmediums (CB-Bouillon) wurde als Referenzwert („Blank“) für das Einstellen der optischen Dichte bei einer Wellenlänge von 600 nm (OD600) in eine Küvette pipettiert.

In einem weiteren Plastikröhrchen wurden zehn Milliliter PBS-Puffer vorgelegt und nun in mehreren Schritten aus der hochkonzentrierten Suspension kleine Mengen in das Röhrchen mit zehn Milliliter PBS-Puffer pipettiert und wiederholt die optische Dichte kontrolliert, bis eine OD600 = 0,35 erreicht war. Auf der Basis von im Institut etablierten Laborstandards kann bei dieser optischen Dichte von einer Bakterienzahl von 10^8 KBE/ 100 µl ausgegangen werden. Aus der Suspension wurden 1,5 ml mit 12 ml PBS-Puffer und 1,5 ml Glycerin gemischt, um eine einfrierbare Suspension mit 10^7 KBE/ 100 µl zu erhalten. Von dieser Suspension wurden nun je 1 ml in sterile „Kryo-Tubes“ aliquotiert und bei -80 °C eingefroren.

Diese eingefrorenen Bakteriensuspensionen wurden für alle weiteren Versuche genutzt. Die Röhrchen sollten im Rahmen der Versuchsreihen für einen Zeitraum von maximal 3 Monaten tiefgefroren

gelagert werden. Um durch das Einfrieren bedingte Keimzahlverluste weitestgehend auszuschließen, wurde die erste Überprüfung der tatsächlichen Bakterienzahl in den Röhrchen erst nach einer Woche Lagerung bei -80 °C durchgeführt.

Mithilfe einer Verdünnungsreihe in Zehnerpotenzschritten (d.h. je 100 µl Suspension in 900 µl PBS-Puffer) wurden die tatsächlichen Bakterienzahlen (KBE) pro Verdünnungsstufe ermittelt. Hierzu wurden pro Verdünnungsstufe je 100 µl Aliquots mit dem Plattier-Automaten auf CB-Agar ausplattiert und für 24 Stunden bebrütet. Die dabei erhobenen Zahlen für *S. aureus* und *S. epidermidis* finden sich in Tabelle 1.1 (Kapitel 3.1 *Ergebnisse der Vorversuche*). Sie wurden an drei aufeinanderfolgenden Tagen aus je drei aufgetauten Röhrchen ermittelt. Es zeigte sich, dass die angestrebten Keimzahlen nicht ganz erreicht wurden, dass aber in den verschiedenen Verdünnungsreihen vergleichbare KBE-Konzentrationen zu finden waren. Die im Mittel gefundenen Keimzahlen der jeweiligen Suspensionen wurden für alle weiteren Berechnungen zu den Vorversuchen angewendet (Tabelle 1.2, Kapitel 3.1 *Ergebnisse der Vorversuche*). Es wurde also für die eingefrorenen *S.-aureus*-Aliquots mit einer Konzentration von $3,65 \times 10^5$ KBE/ 100 µl und für die eingefrorenen *S.-epidermidis*-Aliquots mit einer Konzentration von $5,5 \times 10^6$ KBE/ 100 µl gerechnet.

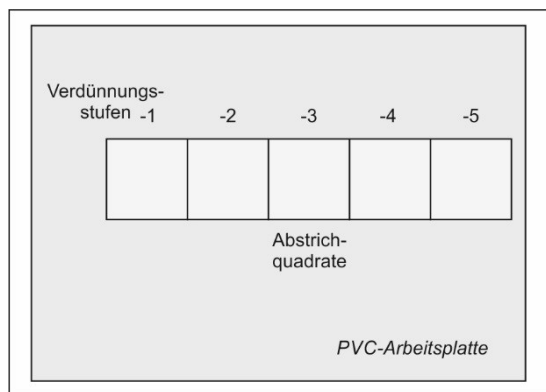
2.1.3 Vorbereitung der gezielt zu kontaminierenden Arbeitsfläche

Die im Folgenden beschriebene Methode zur Präparierung der Arbeitsfläche wurde in mehreren Versuchsläufen sukzessive erarbeitet. Erst beim endgültig beschriebenen Versuchsaufbau konnten reproduzierbar Bakterien in ausreichender Zahl mittels Abstrich-Tupfer wiedergefunden und ausgezählt werden. Die einzelnen Schritte zur Etablierung der endgültigen Methode sollen hier der Vollständigkeit halber kurz beschrieben werden.

Zunächst wurden die Versuche auf einer Edelstahloberfläche durchgeführt. Um die Oberfläche als Ursache für die geringe Reproduzierbarkeit der Versuche ausschließen zu können, wurde diese sehr bald durch eine desinfizierbare PVC-Arbeitsfläche mit glatter Oberfläche ersetzt. Zu Beginn jedes Versuchsablaufs wurde die Arbeitsfläche mit handelsüblichem nicht-aldehydhaltigen Flächendesinfektionsmittel vorbehandelt. Aufgrund der potentiellen Remanenzwirkung wurde das nicht-aldehydhaltige Flächendesinfektionsmittel zunächst durch ein industriell gefertigtes alkoholisches Desinfektionsmittel ersetzt. Da hierdurch weiterhin keine hinreichend reproduzierbaren Ergebnisse herbeigeführt werden konnten, wurde die Arbeitsfläche schließlich nur noch mit siebzigprozentiger Ethanol-Lösung aus eigener Herstellung vorbehandelt. Weil trotz dieser Veränderungen im Arbeitsablauf immer noch viel zu wenig Bakterien in den Abstrichen wiedergefunden werden konnten, ergab sich der Verdacht, dass das alkoholische Desinfektionsmittel

Reste von zuvor verwendeten nicht-aldehydhaltigen Desinfektionsmittel reaktivierte und deswegen die Ausbeute der Abstriche so gering war. Erst nachdem die Arbeitsfläche – nach Vorbild der üblichen Vorgehensweise bei der industriellen Desinfektionsmitteltestung – mit seifenhaltiger Lösung abgewaschen, getrocknet und anschließend mit Ethanol desinfiziert worden war, konnten in den durchgeführten Untersuchungen tatsächlich Bakterien in reproduzierbaren Mengen mittels Tupfer von der Arbeitsfläche abgestrichen und anschließend ausgezählt werden. Es ergab sich also folgendes Versuchsschema:

Eine glatte Kunststoff-Arbeitsfläche (PVC) wurde mit einer Seifenlösung abgewaschen, mit klarem Wasser abgespült und mit Papierhandtüchern getrocknet. Anschließend erfolgte die Wischdesinfektion für 3x15 Minuten mit siebzigprozentigem Alkohol. Auf der desinfizierten Arbeitsfläche wurden zur Messung der unterschiedlichen Verdünnungsstufen Quadrate mit jeweils 5 cm Kantenlänge markiert (siehe Grafik 1.1).



Legende zu Grafik 1.1: Schematische Darstellung der Markierung von zu untersuchenden Teilflächen auf der Arbeitsfläche.

Grafik 1.1

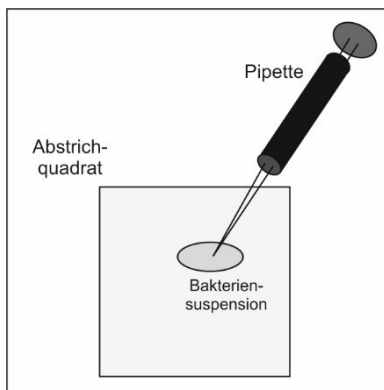
2.1.4 Herstellung einer *S.-epidermidis*-Suspension mit definierter Bakterienkonzentration

Für die Versuchsreihe mit *Staphylococcus epidermidis* wird die zu untersuchende Bakteriensuspension folgendermaßen hergestellt:

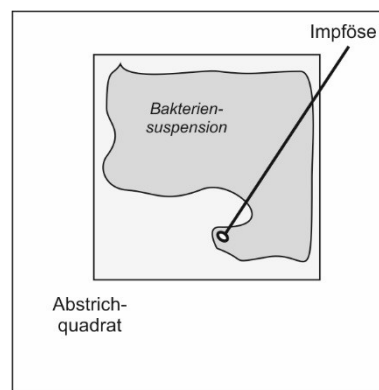
Ein „Kryo-Tube“ mit dem *S.-epidermidis*-Stamm wird aufgetaut (angenommene Ausgangskonzentration von $5,5 \times 10^6$ KBE/ 100 μ l, s.o.). Daraus werden zwei Versuchsreihen erstellt. Hierzu werden je einmal 250 μ l entnommen und in 750 μ l PBS pipettiert. Es ergibt sich rechnerisch eine ungefähre Konzentration von knapp 1×10^6 KBE/ 100 μ l. Aus dieser Suspension werden fünf Verdünnungsstufen angefertigt (bis zu einer vermuteten Konzentration von 10 KBE/ 100 μ l). Die Kongruenz der errechneten und tatsächlich vorhandenen Bakterienmengen in den Verdünnungsstufen wurde durch Ausplattieren von je 100 μ l jeder Verdünnungsstufe direkt auf Col-Agar-Platten und anschließendes Bebrüten über Nacht ermittelt.

2.1.5 Gezielte Kontamination der Arbeitsfläche mit *S. epidermidis*

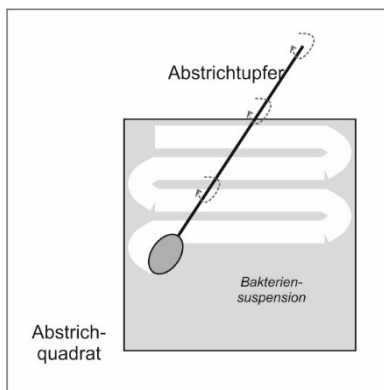
Aus den Röhrchen der Verdünnungsreihen wurden je 100 µl pro Verdünnungsstufe auf die entsprechend markierten Quadrate auf der Arbeitsfläche pipettiert (siehe Grafik 1.2) und mittels Impföse gleichmäßig im gesamten Quadrat verteilt (siehe Grafik 1.3). Nach einer Stunde Eintrocknungszeit wurde jedes Quadrat mit dem auf seine Bakterienaufnahme- resp. -abgabeleistung zu untersuchenden Tupfer abgestrichen. Hierzu wurde der PBS-benetzte Tupfer zweimal unter leichtem Druck und unter ständiger Drehung mäandernd über das jeweilige Quadrat gestrichen (siehe Grafik 1.4). Anschließend wurde der Tupfer in 1 ml PBS (in einem 10 ml Plastikröhrchen vorgelegt) auf dem Laborschüttler kurz gerüttelt und danach intensiv am Rand des Plastikröhrchens ausgedrückt. Aus dieser neu gewonnenen Suspension wurden 100 µl entnommen und mittels Drigalski-Stab auf einer Col-Agar-Platte ausplattiert (siehe Grafik 1.5). Die Platten wurden für 24 Stunden bei 36 °C und einer mit fünf Prozent CO₂ angereicherten Atmosphäre bebrütet. Am Folgetag wurden die KBE ausgezählt.



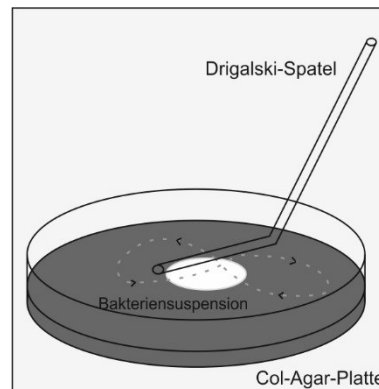
Grafik 1.2



Grafik 1.3



Grafik 1.4



Grafik 1.5

Legende zu den Grafiken 1.2 – 1.5: Schematische Darstellung des Auftrags einer Keimsuspension auf die zu untersuchende Teilfläche mittels einer Druckpipette (**Grafik 1.2**), der Verteilung der Keimsuspension auf der Teilfläche mittels einer Impföse (**Grafik 1.3**), des Abstreichens der absichtlich kontaminierten Teilfläche mittels eines Tupfers (**Grafik 1.4**), sowie des gleichmäßigen Auftrags einer Keimsuspension, die unter Verwendung des zuvor benutzten Abstrichtupfers hergestellt wurde, auf einem Agarmedium mittels eines Drigalski-Spatels (**Grafik 1.5**).

Die beschriebenen Versuche wurden fünfmal an unterschiedlichen Tagen durchgeführt, um eine statistische Bewertung der erhobenen Zahlen zu ermöglichen. Die Ergebnisse der Auszählung können den Tabellen 2.1 bis 2.4 (im Kapitel 3.1.1. *Ergebnisse der Vorversuche mit S. epidermidis*) entnommen werden.

2.1.6 Herstellung einer *S.-aureus*-Suspension mit definierter Bakterienkonzentration

Für die Versuchsreihe mit *Staphylococcus aureus* wird die zu untersuchende Bakteriensuspension folgendermaßen hergestellt:

Ein „Kryo-Tube“ des *S.-aureus*-Stamms (angenommene Ausgangskonzentration von $3,65 \times 10^5$ KBE/ 100 μ l, s.o.) wurde aufgetaut. Um eine Ausgangskonzentration von annähernd 1×10^5 KBE/ 100 μ l zu erhalten, wurden 425 μ l der Stammlösung in 575 μ l PBS-Puffer gegeben und aus dieser Suspension eine Verdünnungsreihe (bis zu einer vermuteten Konzentration von 10 KBE/ 100 μ l) angefertigt. Die weiteren Arbeitsschritte erfolgen, wie bereits für den *S.-epidermidis*-Stamm beschrieben. Auch dieser Versuch wurde fünfmal wiederholt. Die Ergebnisse der Auszählung können den Tabellen 3.1 bis 3.4 (im Kapitel 3.1.2. *Ergebnisse der Vorversuche mit S. aureus*) entnommen werden.

2.1.7 Herstellung einer Mischsuspension aus *S. epidermidis* und *S. aureus* mit definierter Bakterienkonzentration

Anschließend soll die Testsensitivität des verwendeten Tupfertyps mit einer definierten Mischsuspension untersucht werden. Hierfür wurde mit einer Mischsuspension aus den zwei beschriebenen Staphylokokkenstämmen im Mengenverhältnis *S. epidermidis* : *S. aureus* = 10 : 1 gearbeitet. Zur Herstellung der Mischsuspension wurde je ein „Kryo-Tube“ der *S.-epidermidis* und *S.-aureus*-Stämme aufgetaut. Es wurde, wie bisher, eine Ausgangskonzentration von $3,65 \times 10^5$ / 100 μ l für den *S.-aureus*-Stamm und von $5,5 \times 10^6$ / 100 μ l für den *S.-epidermidis*-Stamm angenommen. Zunächst wurden analog zu den Vorversuchen mit den Reinkulturen 425 μ l der *S.-aureus*-Suspension in 575 μ l PBS pipettiert. Dies ergab eine ungefähre Konzentration von 1×10^5 KBE/ 100 μ l. Außerdem werden 250 μ l der *S.-epidermidis*-Suspension in 750 μ l PBS pipettiert. Eine ungefähre Konzentration von 1×10^6 KBE/ 100 μ l wurde erreicht. Aus beiden Suspensionen (*S. aureus* und *S. epidermidis*) wurden jeweils 100 μ l entnommen und in 800 μ l PBS gegeben. Dies stellte die erste Verdünnungsstufe der Mischsuspension mit 1×10^5 KBE/ 100 μ l *S. epidermidis* und 1×10^4 KBE/ 100 μ l *S. aureus* dar. Von dieser Suspension wurden in 1 : 10 Schritten vier weitere Verdünnungsstufen angefertigt. Aus jeder der so hergestellten Verdünnungsstufen wurden zum einen wieder je 100 μ l auf Col-Agar-Platten i. S. e. Kontrollreihe

ausplattiert und zum anderen auf die wie oben beschrieben präparierte Arbeitsplatte aufgetragen, verteilt und nach einer Stunde Eintrocknungszeit in der, ebenfalls bereits beschriebenen Art, mittels Tupfer abgestrichen. Der Tupfer wurde in 1 ml PBS ausgewaschen. Aus dieser Suspension wurden 100 µl auf Col-Agar-Platten ausplattiert und bei 36 °C und fünf Prozent CO₂ für 24 Stunden bebrütet.

Dieser Versuch wurde fünfmal an verschiedenen Tagen wiederholt. Die Ergebnisse der KBE-Auszählung können den Tabellen 4.1 bis 4.4 (im Kapitel 3.1.3. *Ergebnisse der Vorversuche mit Mischsuspension aus S. epidermidis und S. aureus*) entnommen werden.

2.1.8 Anfertigen rasterelektronenmikroskopischer Aufnahmen der Reinkulturen von *S. epidermidis* und *S. aureus* und einer Mischsuspension im Verhältnis 10 : 1

Zur Untersuchung des Klumpungsverhaltens und damit der Homogenität der jeweiligen Suspension der in den Vorversuchen verwendeten Staphylokokkenstämme wurden rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen von je einer Reinkultur der *S.-epidermidis*- und *S.-aureus*-Stämme sowie einer Mischsuspension der beiden Stämme im Verhältnis 10 : 1 angefertigt.

Hierzu wurden aus den aufgetauten Reinkulturen 100 µl der *S.-epidermidis*-Suspension in CB-Medium gegeben und bei 36 °C (fünf Prozent CO₂) für eine Stunde auf Deckgläschen in Platten mit 24 Vertiefungen inkubiert, damit die Keime auf dem Deckgläschen adhärieren. Parallel dazu wurden die gleichen Schritte mit 100 µl der aufgetauten Reinsuspension des *S.-aureus*-Stamms durchgeführt. Außerdem wurde im Verhältnis von 10 : 1 in CB-Medium eine Mischkultur der beiden Stämme auf einem dritten Deckgläschen angesetzt.

Die Deckgläschen wurden unter der Steril-Werkbank zweimal mit 1 ml PBS gewaschen. Danach wurde je 1 ml Glutardialdehyd zur Fixierung hinzugegeben (Einwirkzeit 1 Stunde). Die Präparate wurden anschließend in einer Alkoholreihe entwässert und zur Vorbereitung der REM-Untersuchung mit Gold beschichtet („gesputtert“) und in der Core-facility „Elektronenmikroskopie“ der Universitätsmedizin untersucht und fotografiert (Herr Laabs, Elektronenmikroskopisches Labor, Universität Rostock). Für die Aufnahmen vgl. Grafik 2.1-2.3 (Kapitel 3.1.4. *Rasterelektronenmikroskopische Bilder*).

2.2 Feldversuche

2.2.1 Durchführung der Abstriche auf den Stationen

Nach Beendigung der Vorversuche im Labor wurden nun zehn unterschiedliche Griffflächen auf zwei Intensivstationen (Station 1: internistische Intensivstation und Station 2: anästhesiologische Intensivstation) 15 bis 30 Minuten vor bzw. 15 bis 30 Minuten nach einer desinfizierenden Reinigung untersucht. Die zu untersuchenden Flächen wurden im Vorfeld mit den zuständigen Hygienefachkräften des Universitätsklinikums Rostock ausgewählt und die Versuchsanordnung mit den Stationsleitungen sowie den Stationsärzten besprochen. Nach eingehender Beratung fiel die Wahl auf folgende Griffflächen (in Klammern die jeweilige Größe der Fläche zur späteren KBE-Konzentrations-Berechnung):

1. Computertastatur (Leer-Taste), Arztzimmer ($4,0 \times 1,2 \text{ cm} = 4,8 \text{ cm}^2$)
2. Bedienfeld, Perfusor ($4,0 \times 2,0 \text{ cm} = 8,0 \text{ cm}^2$)
3. Computertastatur (Leer-Taste), Bettplatz-PC ($4,0 \times 1,2 \text{ cm} = 4,8 \text{ cm}^2$)
4. Türgriff, Einzelzimmer, von außen ($2,0 \times 8,0 \text{ cm} = 16 \text{ cm}^2$)
5. Mobiles Stationstelefon (Griffbereich) ($3,0 \times 7,0 \text{ cm} = 21 \text{ cm}^2$)
6. Computertastatur (Leer-Taste), Schwesternarbeitsplatz ($4,0 \times 1,2 \text{ cm} = 4,8 \text{ cm}^2$)
7. Computermaus (linke Maustaste), Schwesternarbeitsplatz ($2,0 \times 3,0 \text{ cm} = 6 \text{ cm}^2$)
8. Telefonhörer (Griffbereich), Arztzimmer ($3,0 \times 7,0 \text{ cm} = 21 \text{ cm}^2$)
9. Türgriff, Mehrbettzimmer, von außen ($2,0 \times 8,0 \text{ cm} = 16 \text{ cm}^2$)
10. Computermaus (linke Maustaste), Arztzimmer ($2,0 \times 3,0 \text{ cm} = 6 \text{ cm}^2$)
11. Daumenballen, sowie Handinnenfläche einiger Mitarbeiter des ärztlichen und pflegerischen Personals (je drei pro Station).

Einige dieser Flächen werden von speziell ausgewiesenen Reinigungsfachkräften zweimal täglich flächendesinfiziert (je einmal im Frühdienst und einmal im Spätdienst). Zu diesen Flächen gehören das Bedienfeld der Spritzenpumpe (Perfusor), die Türgriffe und die Tastatur des Bettplatz-Computers. Die Abstriche wurden für jeden Abstrichort und jede Station dreimal wiederholt.

Zum Transport und Sicherung einer simultanen Elution der in den Vorversuchen getesteten Viskose-Tupfern wurden zehn 10-ml-Greiner-Röhrchen, die mit je 1 ml sterilisierter physiologischer Kochsalzlösung gefüllt waren, verwendet. Für den Abstrich wurde das Greiner-Röhrchen geöffnet, der Tupfer aus seiner Verpackung entnommen und kurz, vollständig in die NaCl-Lösung getaucht. Der so angefeuchtete Tupfer wurde nun unter mittlerem Druck (sodass sich der Tupferstiel unter dem Druck leicht biegt) zügig mäandernd unter ständiger Drehung über die abzustreichende Fläche geführt (vgl.

Grafik 1.4). Nach dem Abstrich wurde der Tupfer wieder in das mit NaCl-Lösung befüllte Greiner-Röhrchen gesteckt, der überstehende Tupferstiel abgebrochen und das Röhrchen mit dem Schraubdeckel verschlossen. Auf diese Weise wurden alle oben genannten zehn Griffflächen nacheinander abgestrichen. Die mit den Tupfern befüllten Greiner-Röhrchen wurden stehend gelagert (in einem Reagenzglasständer) und innerhalb von zehn Minuten in das Labor zur weiteren Aufbereitung verbracht.

Neben den Abstrichen der o. g. Griffflächen wurden stichprobenweise auf jeder Station Abstriche von den Händen (Daumen und Handinnenfläche der dominierenden Hand von je drei Ärzten und Pflegefachkräften) in der oben beschriebenen Art und Weise gemacht. Diese Versuche dienten der qualitativen Ermittlung des vorherrschenden Keimmilieus (Zusammensetzung der Hautflora) des auf der jeweiligen Station arbeitenden Personals. Je untersuchter Person wurde ein Tupfer benutzt.

2.2.2 Aufbereitung der Abstrichtupfer

Im Labor wurde der Tupfer mit einer sterilen Pinzette zur Hälfte aus dem geöffneten Greiner-Röhrchen herausgezogen, sodass der verbliebene Tupferstiel zu fassen war. Das Röhrchen wurde mit der linken Hand gehalten und schräg auf den Laborschüttler gesetzt (sodass dieser startete), während mit der rechten Hand der Tupfer gegen die Innenwand des Röhrchens gedrückt und gedreht wurde. Die auf diese Weise wirkenden Scherkräfte wurden genutzt, um die am Tupfer haftenden Bakterien in Suspension zu bringen. Nachdem der Tupfer so für 30 Sekunden ausgewaschen wurde, wurde die im Tupfer verbliebene Flüssigkeit durch sorgfältiges Ausdrücken des Tupfers am Innenrand des Greiner-Röhrchens bestmöglich zurückgewonnen. Der Tupfer wurde danach verworfen. Das Röhrchen wurde wieder mittels Schraubverschluss verschlossen und erneut für mindestens zehn Sekunden auf den Laborschüttler gedrückt. Aus dieser Suspension wurden je 100µl mit einer Druckpipette abgehoben und jeweils auf eine Columbia-Agar-Platte mit fünf Prozent Schafsblutsupplement (Universalmedium) und auf eine MacConkey-Agar-Platte (für selektives Wachstum Gram-negativer Stämme) gegeben und dort mittels Drigalski-Spatel ausplattiert.

Die Columbia-Agar-Platten wurden bei 36 °C und mit fünf Prozent CO₂ angereicherter Atmosphäre, die MacConkey-Agar-Platten bei 36 °C und Raumluft bebrütet. Nach 24 Stunden erfolgte die erste Ablesung. Dazu gehörten die Beschreibung und Auszählung der gewachsenen Kolonien und ggf. die Isolierung der Kolonien auf separaten Col-Agar-Platten. Die Platten wurden für weitere 24 Stunden bebrütet, um auch langsamer wachsende Stämme detektieren zu können. Diese eventuellen „Nachzügler“ wurden ebenfalls beschrieben, gezählt und isoliert.

2.2.3 Auswertung der bebrüteten Platten

Die Beschreibung der gewachsenen Kolonien erfolgte nach einfachen morphologischen Kriterien. Es wurden Farbe (weiß, grau, gelb, gelblich), Größe (groß, klein), Hämolyse-Verhalten (ja, nein) und Oberflächenbeschaffenheit (matt, glänzend, glatt, schuppig) beschrieben und dokumentiert.

Des Weiteren wurde das Katalase-Verhalten mittels H_2O_2 (zur Differenzierung Katalase-positiver Staphylokokken von Katalase-negativen Streptokokken) beurteilt. Bei morphologisch auffälligen Kolonien (goldgelbe Farbe und Hämolysehof) wurde die Koagulase-Reaktion mittels Latex-Agglutinationstest überprüft. Somit konnten die zumeist apathogenen Koagulase-negativen Staphylokokken (KnS, z.B. *S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, *S. hominis*, *S. capitis*) von den pathogenen Koagulase-positiven Staphylokokken (*S. aureus*) differenziert werden.

Lag makroskopisch-morphologisch der Verdacht auf Gram-negative Kolonien vor, wurde die KOH-Reaktion als Schnelltest zur Detektion Gram-negativer Kolonien (KOH-positiv) angewendet. Falls diese positiv ausfiel, wurde zusätzlich der Oxidase-Schnelltest mittels CO-Papier (Filterpapier) und Oxidase-Reagenz (N,N-Dimethyl-1,4-Phenylendiamin) durchgeführt, um das Vorliegen von Oxidase-positiven Keimen (in der Praxis zumeist Nonfermentern) durch Blaufärbung des Papiers nachzuweisen. Außerdem wurden von allen Kolonien mit unterschiedlicher Morphologie Gram-Färbungen angefertigt und die Präparate mikroskopisch beurteilt.

Kolonien mit auffälliger Morphologie, die *S. aureus* vermuten ließen, wurden für eine anschließende massenspektrometrische Untersuchung außerdem gesondert isoliert und vermehrt. Ergab sich bei dieser Analyse doch eine Differenzierung als Koagulase-negative Staphylokokken, gingen diese in die Statistik als „KnS“ ein und wurden nicht gesondert aufgeführt.

2.3 Materialliste

Die im Folgenden aufgeführten Materialien fanden während der Vorversuche, bzw. im Rahmen der Feldversuche Verwendung:

2.3.1 Chemikalien

Chemikalie	Hersteller
Agar Technical	Oxoid Ltd., England
Caso-Bouillon	Roth
Ethanol 70 %	Eigene Herstellung
Glycerin 99,9 %	Roth
H ₂ O ₂ -Lösung 3 %	Eigene Herstellung
KOH-Lösung 3 %	Eigene Herstellung
NaCl 0,9 %-Lösung	Eigene Herstellung
PBS steril	Eigene Herstellung (Ein Liter Lösung enthält: 8,0 g Natriumchlorid (NaCl) 0,2 g Kaliumchlorid (KCl) 1,42 g Dinatriumhydrogenphosphat (Na ₂ HPO ₄) 0,27 g Kaliumdihydrogenphosphat (KH ₂ PO ₄))

2.3.2 Verbrauchsmaterialien

Verbrauchsmaterial	Hersteller
10 ml Röhrchen	Greiner Bio-one
50 ml Röhrchen	Greiner Bio-one
Columbia-Agar mit 5 % Schafsblut	Becton Dickinson (BD)
Cryo-Tube™ Vials 1,8 ml	Nunc
Drigalski-Spatel	Laborbestand

Eppendorf-Reagiergefäße 1,5 ml	Sarstedt
Glasspatel	Laborbestand
Handschuhe, Nitril, unsteril	Hartmann
Impfösen 10µl, blau, steril	Greiner Bio-one
MacConkey II-Agar	Becton Dickinson (BD)
Neutrale Abstrichtupfer (Viskose), steril	Sarstedt, Produktnr.: (EAN des Innenkartons: 4038917086103)
Objektträger, Rand geschliffen, Glas	Menzel-Gläser
Oxidase-Teststreifen (Filterpapierstreifen getränkt mit N,N-Dimethyl-1,4-Phenylendiamin)	Eigene Herstellung
Pastorex Staph Plus Latex Agglutinationstest	Bio Rad
Petrischalen (steril)	Sarstedt
Pipettenspitzen Typ Eppendorf, steril 10-100 µl	Greiner Bio-one
Pipettenspitzen Typ Eppendorf, steril 100-1000 µl	Greiner Bio-one
Safe-Lock-Tube 2 ml	Eppendorf

2.3.3 Geräte

Gerät	Hersteller
GN-Identifizierungskarten AST-N263, AST-N248	BioMérieux
GP-Identifizierungskarte AST-P619	BioMérieux
Lichtmikroskop	Olympus
Pipette 5 ml	Greiner Bio-one
Pipette 100 µl	Gilson
Pipette 1000 µl	Gilson
Pipette 10 ml	Greiner Bio-one
Pipette 25 ml	Greiner Bio-one
Rasterelektronenmikroskop, Typ: DSM 960 A	Carl Zeiss
Spiralplattenautomat Eddy Jet	IUL
Vortex-Laborschüttler 7-2020	neoLab
Waage	Sartorius
Zentrifuge	Heraeus

2.4 Statistik

Die experimentell erhobenen Daten wurden mit IBM SPSS Statistics (Version 20) und Microsoft Excel (2011-2013) rechnerisch und grafisch ausgewertet. Neben der Ermittlung der Bakteriengesamtzahl pro Abstrichfläche wurden ebenfalls die Bakterienkonzentrationen pro Quadratzentimeter errechnet. Die grafische Darstellung der Daten erfolgte mittels Boxplot-, Balken-, und Kreisdiagrammen. Die Überprüfung der Nullhypothese wurde mittels Mann-Whitney-U-Test für unverbundene Stichproben durchgeführt. Eine statische Signifikanz wurde ab einem p-Wert von <0,05 angenommen.

3 Ergebnisteil

Im Folgenden werden die Ergebnisse der Vor- und Feldversuche erläutert.

3.1 Ergebnisse der Vorversuche

Nach dem Herstellen und Einfrieren der Bakteriensuspensionen musste überprüft werden, wie viele Bakterien pro Referenzvolumen nach dem Auftauen tatsächlich noch vorhanden waren, um daraus quantitativ definierte Bakteriensuspensionen herstellen zu können. Tabelle 1.1 stellt für die unterschiedlichen Verdünnungsstufen die Bakterienmengen hochgerechnet auf eine Keimzahl pro 100 µl von *S. aureus* und *S. epidermidis* gegenüber. Diese Werte wurden in Tabelle 1.2 gemittelt, um jeweils für die *S. aureus*- und *S. epidermidis*-Suspensionen näherungsweise eine Keimmenge angeben zu können. So ergab sich für *S. aureus* eine Konzentration von $3,65 \times 10^5$ KBE/ 100 µl und für *S. epidermidis* eine Konzentration von $5,5 \times 10^6$ KBE/ 100 µl. Auf Grundlage dieser Werte wurden alle weiteren Versuche durchgeführt.

<i>S. aureus</i>				<i>S. epidermidis</i>		
10 ⁵ (-2)	4,00E+05	4,40E+05	4,40E+05			
10 ⁴ (-3)	3,90E+05	2,60E+05	2,60E+05	5,30E+06	5,20E+06	5,30E+06
10 ³ (-4)				5,60E+06	5,70E+06	5,90E+06

Tabelle 1.1

	<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>
10 ⁵ (-2)	4,27E+05	
10 ⁴ (-3)	3,03E+05	5,27E+06
10 ³ (-4)		5,73E+06
Mittelw.	3,65E+05	5,50E+06

Legende zu Tabelle 1.1 – 1.2: Keimzahlen der *S. aureus*- und *S. epidermidis*-Stammsuspensionen nach einer Woche Lagerung bei -20°C (Tabelle 1.1), Mittelwerte der Keimzahlen aus Tabelle 2.1 zur Herstellung der Gebrauchssuspensionen (Tabelle 1.2).

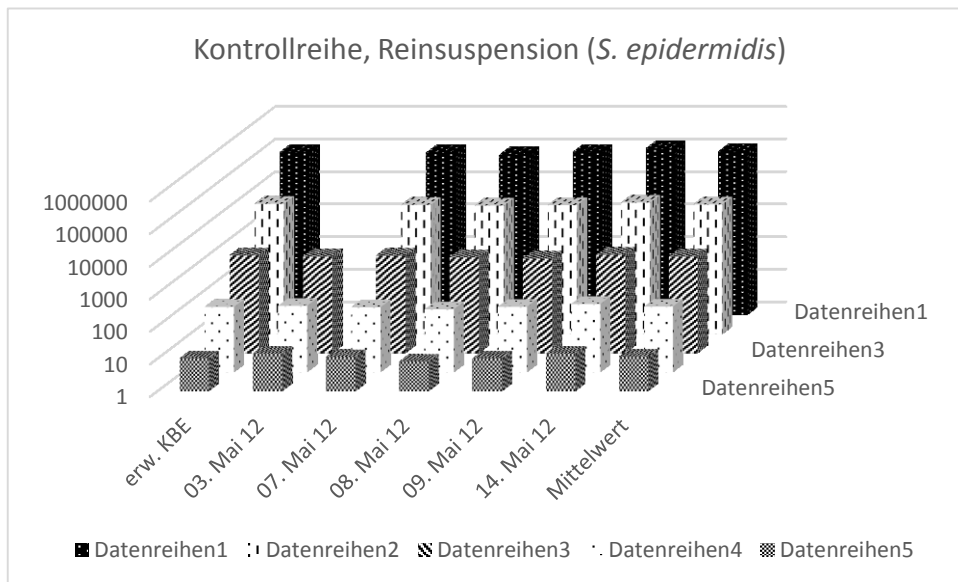
Tabelle 1.2

Anschließend wurden Bakteriensuspensionen mit definierten Konzentrationen zur gezielten Beimpfungen einer Testfläche hergestellt, zunächst mit einer Reinsuspension von *S. epidermidis*, dann mit einer Reinsuspension von *S. aureus* und anschließend mit einer Mischsuspension aus beiden Stämmen. Um festzustellen, ob tatsächlich die angestrebten KBE-Konzentrationen in den einzelnen Versuchsreihen vorlagen, wurde jeweils eine Kontrollreihe durch Verimpfen von Aliquots aus den Gebrauchsverdünnungen auf Kulturmedien angefertigt.

3.1.1 Ergebnisse der Vorversuche mit *S. epidermidis*

Wie in Kapitel 2.1.4. beschrieben, wurden für die Vorversuche Bakteriensuspensionen mit definierten Bakterienkonzentrationen benötigt. Um zu kontrollieren, ob die angestrebte Keimkonzentration tatsächlich erreicht wurde, wurde die Suspension entsprechend der beschriebenen Vorgehensweise hergestellt und die unterschiedlichen Verdünnungsstufen auf Standardmedium ausplattiert. Danach wurden die KBE ausgezählt und mit der Verdünnungsstufe korreliert. Die Ergebnisse für die Reinsuspension mit *S. epidermidis* an unterschiedlichen Tagen können Tabelle 2.1 und dem dazugehörigen Säulendiagramm entnommen werden. Im Mittel befanden sich 102 Prozent der angestrebten KBE-Konzentration in der *S.-epidermidis*-Reinsuspension.

Erwartete Keimzahlen [KBE]		100000	10000	1000	100	10
Tatsächlich	03. Mai 12			924	108	14
ermittelte	07. Mai 12	97600	9240	980	97	11
Keimzahlen	08. Mai 12	85000	8850	874	84	8
[KBE]	09. Mai 12	102000	9100	800	101	10
	14. Mai 12	130000	10900	1040	123	14
Mittelwert [KBE]		103650	9522,5	923,6	102,6	11,4

**Tabelle 2.1**

Legende zu Tabelle 2.1: *S.-epidermidis*-Keimzahlen der Kontrollmessungen aus den Verdünnungsstufen der aufgetragenen Keimsuspensionen in tabellarischer und grafischer Darstellung. In den jeweiligen Suspensionen befanden sich annähernd die erwarteten Bakterienzahlen (zwischen 95 und 110 Prozent).

Die eigentliche Überprüfung der Sensitivität (sprich der Rate an von der Versuchsoberfläche aufgenommenen und danach abgegebenen Keimen) des verwendeten Viskose-Tupfers erfolgte, wie in Kapitel 2.1.5. beschrieben. Dabei wurden pro Versuchstag zwei getrennte Versuchsreihen durchgeführt. Die Zahlen zur ersten Versuchsreihe mit der *S.-epidermidis*-Reinsuspension finden sich in Tabelle 2.2, die Zahlen für die zweite Versuchsreihe in Tabelle 2.3. Die grau gefärbten Datenpaare (14. Mai 2012) in beiden Versuchsreihen wurden als Ausreißer gewertet und aus der im Weiteren durchgeführten statistischen Rechnung herausgenommen.

Erwartete Keimzahlen [KBE]		100000	10000	1000	100	10
Tatsächlich ermittelte Keimzahlen [KBE]	03. Mai 12	2860	60	10	0	0
	07. Mai 12	5590	3770	690	10	0
	08. Mai 12	9300	1860	380	40	20
	09. Mai 12	6540	3190	150	20	0
	14. Mai 12	480	20	0	0	0
Mittelwert [KBE]		6072,5	2220	307,5	17,5	5

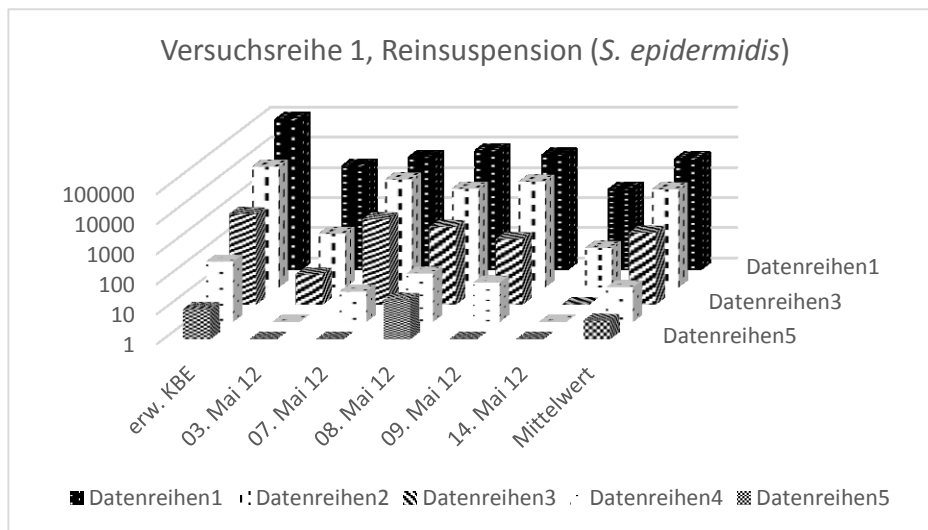
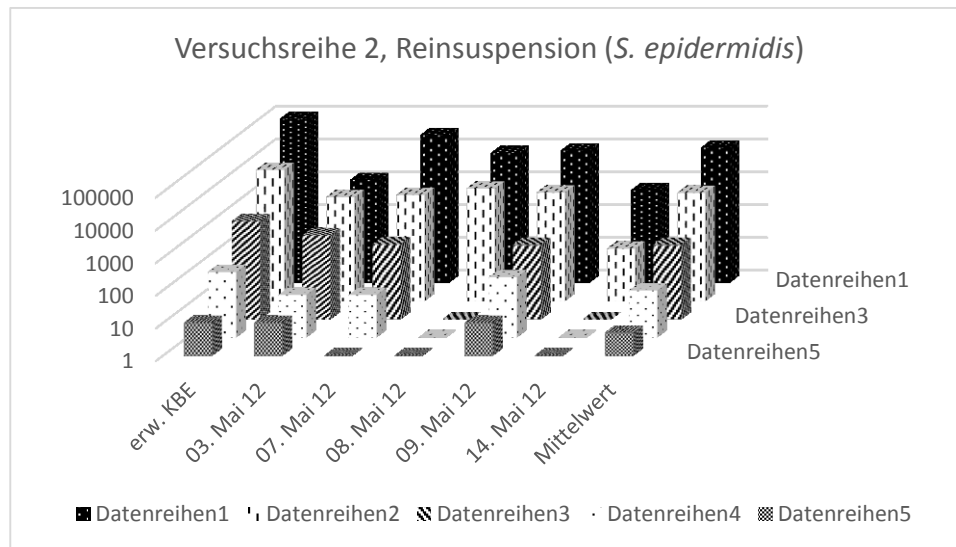


Tabelle 2.2

Legende zu Tabelle 2.2: *S.-epidermidis*-Keimzahlen der ersten Versuchsreihe aus den mittels Abstrich wiedergefundenen Bakterienzahlen in tabellarischer und grafischer Darstellung. In den jeweiligen Suspensionen befanden sich zwischen 6 und 50 Prozent der ursprünglich aufgetragenen Bakterienzahl wieder. Die Sensitivität nahm mit steigender Bakterienzahl ab. Die grau markierte Wertereihe wurde von der weiteren statistischen Berechnung ausgeschlossen. Die angefügten Säulendiagramme verbildlichen die jeweiligen Messergebnisse, wiederum aufgeteilt nach den pro Verdünnungsstufe erwarteten KBE (ganz links im Diagramm), den einzelnen Versuchstagen (auf der Abszisse aufgetragen), den untersuchten Verdünnungsstufen (auf der Ordinate aufgetragen) und den jeweils mittels Tupfer wiedergefundenen Keimzahlen pro Abstrichquadrat (auf der Applikate aufgetragen).

Erwartete Keimzahlen [KBE]		100000	10000	1000	100	10
Tatsächlich ermittelte Keimzahlen [KBE]	03. Mai 12	1380	1490	370	20	10
	07. Mai 12	32000	1730	200	20	0
	08. Mai 12	8960	2720	0	0	0
	09. Mai 12	10840	2060	190	70	10
	14. Mai 12	660	40	0	0	0
Mittelwert [KBE]		13295	2000	190	27,5	5

**Tabelle 2.3**

Legende zu Tabelle 2.3: *S.-epidermidis*-Keimzahlen der zweiten Versuchsreihe aus den mittels Abstrich wiedergefundenen Bakterienzahlen in tabellarischer und grafischer Darstellung. In den jeweiligen Suspensionen befanden sich zwischen 13 und 50 Prozent der ursprünglich aufgetragenen Bakterienzahl wieder. Die Sensitivität nahm mit steigender Bakterienzahl ab. Die grau markierte Wertereihe wurde von der weiteren statistischen Berechnung ausgeschlossen. Die angefügten Säulendiagramme verbildlichen die jeweiligen Messergebnisse, wiederum aufgeteilt nach den pro Verdünnungsstufe erwarteten KBE (ganz links im Diagramm), den einzelnen Versuchstagen (auf der Abszisse aufgetragen), den untersuchten Verdünnungsstufen (auf der Ordinate aufgetragen) und den jeweils mittels Tupfer wiedergefundenen Keimzahlen pro Abstrichquadrat (auf der Applikate aufgetragen).

Für eine bessere Übersichtlichkeit der Ergebnisse wurden in Tabelle 2.4 die vorgenannten Tabellen zusammengefasst. Es ist zu sehen, dass im Mittel im Fall der höheren Keimmengen (100 bis 10000 KBE/ 100 µl) zwischen 22 und 27 Prozent der tatsächlich auf die Testfläche aufgetragenen KBE (vgl. Kontrollreihe weiter oben) *S. epidermidis* mit dem untersuchten Tupfertyp wiedergefunden wurden.

Im Fall der niedrigen Keimmenge (10 KBE / 100 µl) wurden hingegen 44 Prozent der ursprünglich aufgetragenen Bakterienzahl wiedergefunden. Über alle Konzentrationen gemittelt wurden 29 Prozent der initial aufgetragenen *S. epidermidis* wiedergefunden.

Erwartete Keimzahlen [KBE]	10000	1000	100	10
Zusammenfassung der Ergebnisse aus Tabelle 2.1	9523	923,6	102,6	11,4
Zusammenfassung der Ergebnisse aus den Tabellen 2.2 und 2.3	2110	248,75	22,5	5
Anteil der durch Abstrich gefundenen Keimzahlen [KBE] an den tatsächlich in Suspension befindlichen Keimzahlen.	22,16	26,93	21,93	43,86

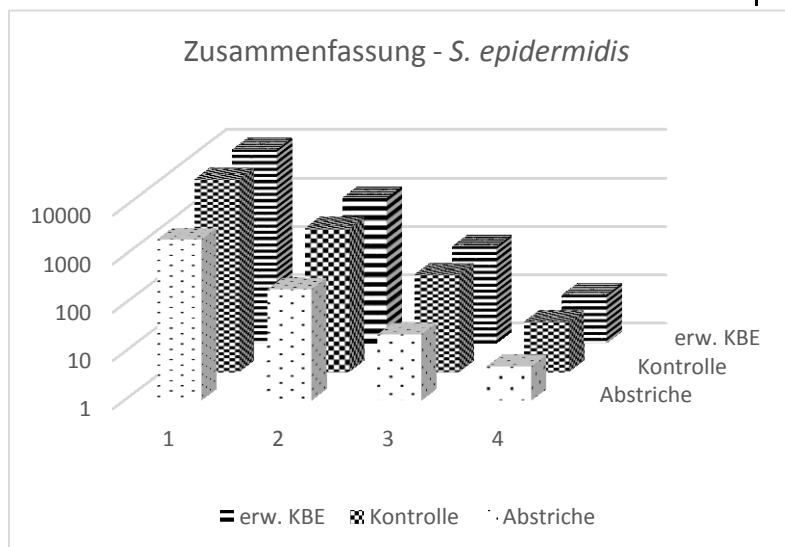


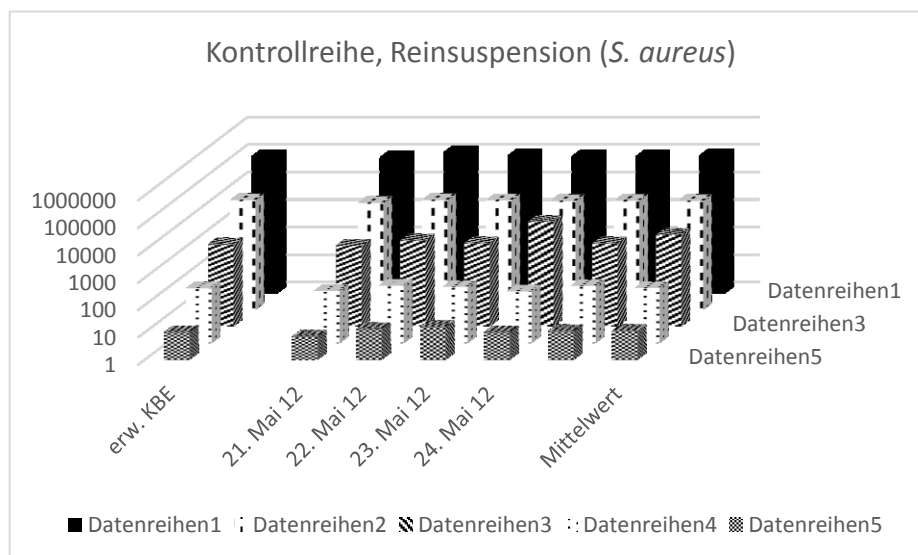
Tabelle 2.4

Legende zu Tabelle 2.4: Tabellarische und grafische Darstellung der mittels Abstrich gewonnenen *S.-epidermidis*-Keimzahlen der ersten und zweiten Versuchsreihe in Gegenüberstellung zu den tatsächlich in Suspension befindlichen Bakterienzahlen [KBE]. Zur Veranschaulichung wurde für jede Verdünnungsstufe der Quotient aus den korrespondierenden Wertepaaren gebildet. Die Werte reichen von rund 22 bis zu rund 44 Prozent, wobei die höchste Sensitivität bei kleinen Bakterienkonzentrationen erreicht wurde.

3.1.2 Ergebnisse der Vorversuche mit *S. aureus*

Entsprechend den zuvor beschriebenen Versuchen mit *S. epidermidis* wurden die gleichen Versuche mit *S. aureus* durchgeführt. Zunächst wurde wieder mittels Kontrollreihen parallel zu den eigentlichen Versuchsreihen überprüft, in welcher tatsächlichen Konzentration *S. aureus* in der Testsuspension vorlag. Die Zahlen sind Tabelle 3.1 zu entnehmen. Es zeigte sich, dass (abgesehen von einem grau markierten Ausreißer, der aus der Berechnung genommen wurde) 106 Prozent der angestrebten Keimkonzentration pro 100 µl in der Reinsuspension vorhanden waren.

Erwartete Keimzahlen [KBE]		100000	10000	1000	100	10
Tatsächlich ermittelte Keimzahlen [KBE]	21. Mai 12	90000	8000	900	80	7
	22. Mai 12	139000	10100	1400	126	13
	23. Mai 12	106000	9900	1110	113	16
	24. Mai 12	99000	9300	6800	77	10
		98000	9600	1100	123	11
Mittelwert [KBE]		106400	9380	1127,5	103,8	11,4

**Tabelle 3.1**

Legende zu Tabelle 3.1: *S.-aureus*-Keimzahlen der Kontrollmessungen aus den Verdünnungsstufen der aufgetragenen Keimsuspensionen in tabellarischer und grafischer Darstellung. In den jeweiligen Suspensionen befanden sich annähernd die erwarteten Bakterienzahlen (zwischen 93 und 113 Prozent). Der grau markierte Wert wurde von den weiteren Berechnungen ausgeschlossen. Am 24. Mai 2012 wurden zwei voneinander unabhängige Versuchsreihen durchgeführt. Die angefügten Säulendiagramme verbildlichen die jeweiligen Messergebnisse, wiederum aufgeteilt nach den pro Verdünnungsstufe erwarteten KBE (ganz links im Diagramm), den einzelnen Versuchstagen (auf der Abszisse aufgetragen), den untersuchten Verdünnungsstufen (auf der Ordinate aufgetragen) und den jeweils mittels Tupfer wiedergefundenen Keimzahlen pro Abstrichquadrat (auf der Applikate aufgetragen).

Analog zu den beiden getrennten Versuchsreihen mit *S. epidermidis* wurden zwei Versuchsreihen mit *S. aureus* durchgeführt. Die Zahlen sind den Tabellen 3.2 (für die erste Versuchsreihe) und Tabelle 3.3 (für die zweite Versuchsreihe) zu entnehmen. Tabelle 3.4 fasst alle Zahlen übersichtshalber zusammen. Im Mittel konnten 49 Prozent (zwischen 35 und 64 Prozent) der tatsächlich auf die Testfläche aufgetragenen Keimmenge (vgl. Kontrollreihe) an *S. aureus* mit dem untersuchten Tupfertyp wiedergefunden werden.

Erwartete Keimzahlen [KBE]		10000	1000	100	10
Tatsächlich ermittelte Keimzahlen [KBE]	21. Mai 12	3500	600	10	0
	22. Mai 12	6840	700	60	0
	23. Mai 12	4790	640	30	10
	24. Mai 12	3940	470	20	10
		2870	380	50	0
Mittelwert [KBE]		4388	558	34	4

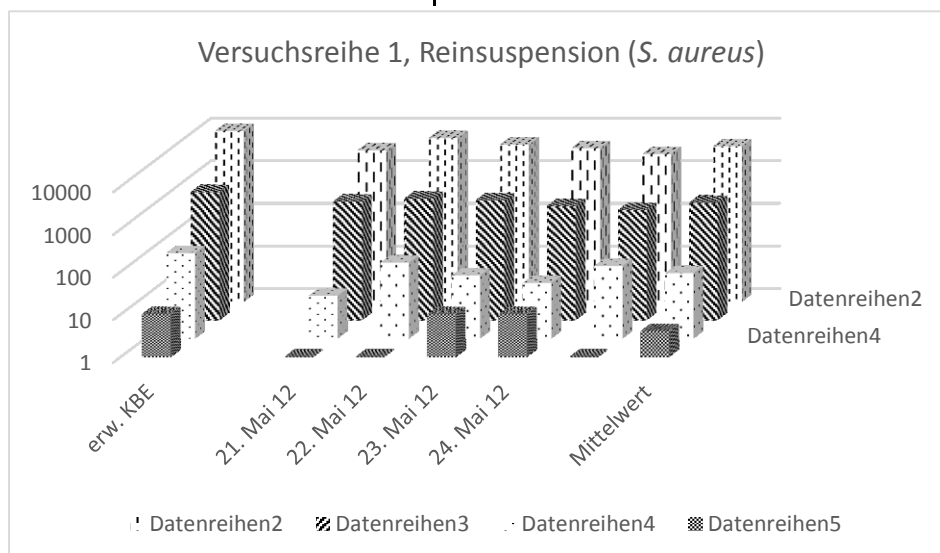
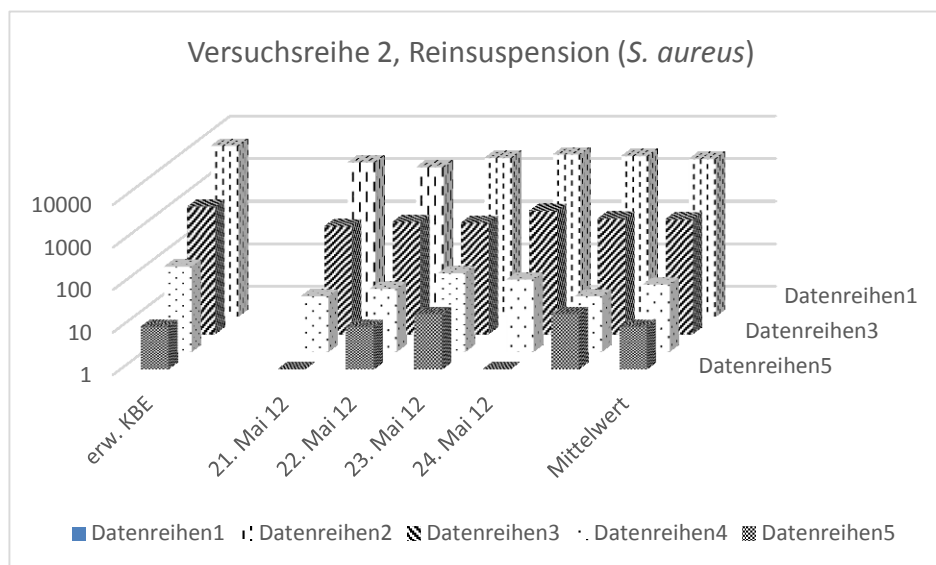


Tabelle 3.2

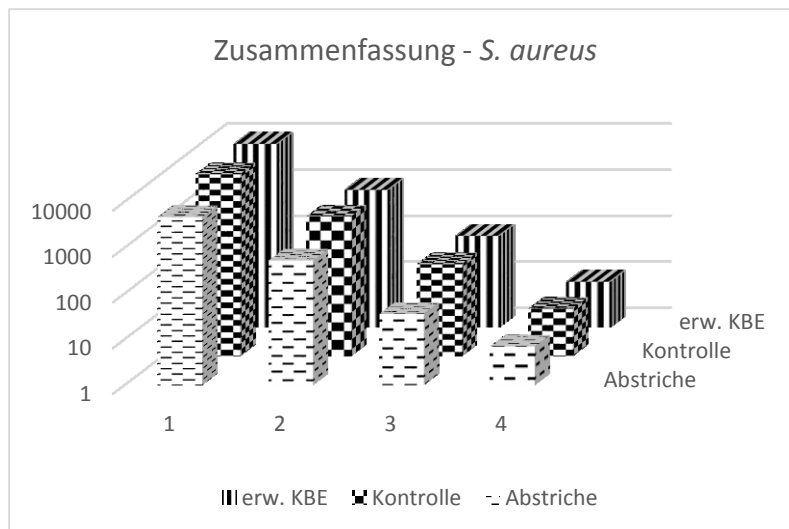
Legende zu Tabelle 3.2: *S.-aureus*-Keimzahlen der ersten Versuchsreihe aus den mittels Abstrich wiedergefundenen Bakterienzahlen in tabellarischer und grafischer Darstellung. In den jeweiligen Suspensionen befanden sich zwischen 34 und 56 Prozent der ursprünglich aufgetragenen Bakterienzahl wieder. Am 24. Mai 2012 wurden zwei voneinander unabhängige Versuchsreihen durchgeführt. Die angefügten Säulendiagramme verbildlichen die jeweiligen Messergebnisse, wiederum aufgeteilt nach den pro Verdünnungsstufe erwarteten KBE (ganz links im Diagramm), den einzelnen Versuchstagen (auf der Abszisse aufgetragen), den untersuchten Verdünnungsstufen (auf der Ordinate aufgetragen) und den jeweils mittels Tupfer wiedergefundenen Keimzahlen pro Abstrichquadrat (auf der Applikate aufgetragen).

Erwartete Keimzahlen [KBE]		10000	1000	100	10
Tatsächlich ermittelte Keimzahlen [KBE]	21. Mai 12	4120	340	20	0
	22. Mai 12	3160	430	30	10
	23. Mai 12	5220	410	70	20
	24. Mai 12	6320	790	50	0
		5760	520	20	20
Mittelwert [KBE]		4916	498	38	10

**Tabelle 3.3**

Legende zu Tabelle 3.3: *S.-aureus*-Keimzahlen der zweiten Versuchsreihe aus den mittels Abstrich wiedergefundenen Bakterienzahlen in tabellarischer und grafischer Darstellung. In den jeweiligen Suspensionen befanden sich zwischen 38 und 100 Prozent der ursprünglich aufgetragenen Bakterienzahl wieder. Am 24. Mai 2012 wurden zwei voneinander unabhängige Versuchsreihen durchgeführt. Die angefügten Säulendiagramme verbildlichen die jeweiligen Messergebnisse, wiederum aufgeteilt nach den pro Verdünnungsstufe erwarteten KBE (ganz links im Diagramm), den einzelnen Versuchstagen (auf der Abszisse aufgetragen), den untersuchten Verdünnungsstufen (auf der Ordinate aufgetragen) und den jeweils mittels Tupfer wiedergefundenen Keimzahlen pro Abstrichquadrat (auf der Applikate aufgetragen).

Erwartete Keimzahlen [KBE]	10000	1000	100	10
Zusammenfassung der Ergebnisse aus Tabelle 2.1	9380	1128	104	11
Zusammenfassung der Ergebnisse aus den Tabellen 2.2 und 2.3	4652	528	36	7
Anteil der durch Abstrich gefundenen Keimzahlen [KBE] an den tatsächlich in Suspension befindlichen Keimzahlen.	49,59	46,81	34,62	63,64

**Tabelle 3.4**

Legende zu Tabelle 3.4: Tabellarische und grafische Darstellung der mittels Abstrich gewonnenen *S.-aureus*-Keimzahlen der ersten und zweiten Versuchsreihe in Gegenüberstellung zu den tatsächlich in Suspension befindlichen Bakterienzahlen [KBE]. Zur Veranschaulichung wurde für jede Verdünnungsstufe der Quotient aus den korrespondierenden Wertepaaren gebildet. Die Werte reichen von rund 35 bis zu rund 64 Prozent, wobei die höchste Sensitivität bei kleinen Bakterienkonzentrationen erreicht wurde.

3.1.3 Ergebnisse der Vorversuche mit Mischsuspension aus *S. epidermidis* und *S. aureus*

In den Feldversuchen musste von Kontaminationen der zu untersuchenden Griffflächen mit mehreren verschiedenen Keimarten ausgegangen werden. Um unter Laborbedingungen die Sensitivität des sterilen Viskosetupfers in Bezug auf solche Mischkontaminationen zu untersuchen, wurde (wie in Kapitel 2.1.7. beschrieben) eine Mischsuspension der beiden bisher einzeln untersuchten Staphylokokkenstämme hergestellt. Es sollte mit einem in der natürlichen Umgebung ohne weiteres realistischen Mischungsverhältnis zwischen *S. epidermidis* und *S. aureus* von zehn zu eins gearbeitet werden. Auch die Mischsuspension wurde in unterschiedlichen Verdünnungsstufen i. S. e. Kontrollreihe direkt auf das Standardmedium ausplattiert und nach dessen Bebrütung ausgezählt. Die Zahlen finden sich in Tabelle 4.1 sowie dem dazugehörigen Säulendiagramm. Den Zahlen ist zu entnehmen, dass im Mittel 120 Prozent der angestrebten *S.-epidermidis*- bzw. 91 Prozent der angestrebten *S.-aureus*-Konzentration in der Mischsuspension wiedergefunden wurde.

Erw. KBE	Epi 10000	Aur 1000	Epi 1000	Aur 100	Epi 100	Aur 10	Epi 10	Aur 1
30.05.2012	18400	1100	1300	30	140	4	13	0
31.05.2012	13400	900	1070	80	117	10	8	1
04.06.2012	11100	900	1310	100	130	8	10	0
05.06.2012	12400	2000	1100	120	114	13	11	0
06.06.2012	12000	1200	1120	120	101	10	11	2
Mittelwert	13460	1220	1180	90	120,4	9	10,6	0,6

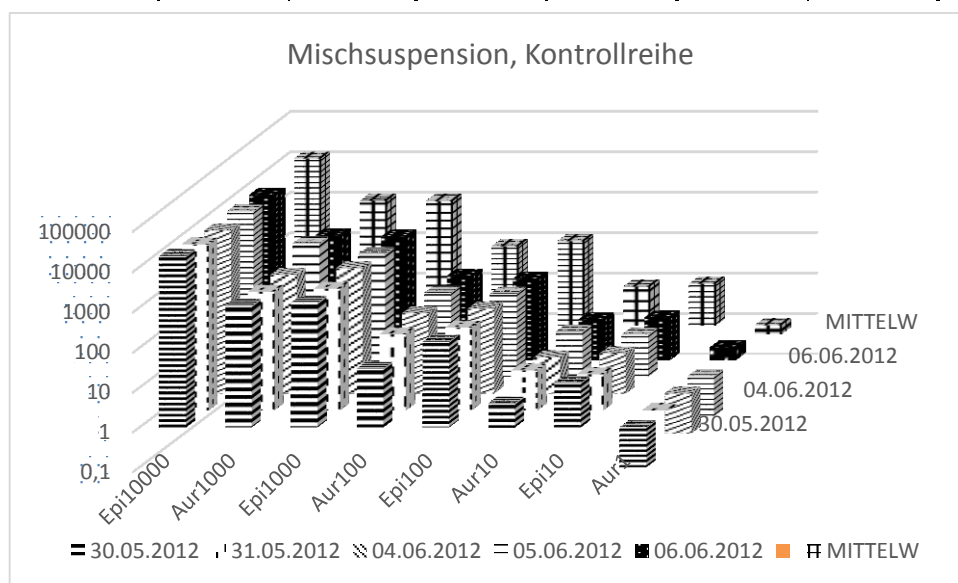


Tabelle 4.1

Legende zu Tabelle 4.1: *S.-epidermidis*- und *S.-aureus*-Keimzahlen der Kontrollmessungen aus den Verdünnungsstufen der aufgetragenen Mischsuspensionen in tabellarischer und grafischer Darstellung. In den einzelnen Verdünnungsstufen der Mischsuspensionen (Mengenverhältnis *S. epidermidis* zu *S. aureus* 10 zu 1) wurden jeweils folgende Keimzahlen erwartet („Erw. KBE“): *S. epidermidis* 10000 KBE/ 100 µl „Epi 10000“ und *S. aureus* 1000 KBE/ 100 µl „Aur 1000“; *S. epidermidis* 1000 KBE/ 100 µl „Epi 1000“ und *S. aureus* 100 KBE/ 100 µl „Aur 100“; *S. epidermidis* 100 KBE/ 100 µl „Epi 100“ und *S. aureus* 10 KBE/ 100 µl „Aur 10“ sowie *S. epidermidis* 10 KBE/ 100 µl „Epi 10“ und *S. aureus* 1 KBE/ 100 µl „Aur 1“. In den jeweiligen Mischsuspensionen befanden sich annähernd die erwarteten Bakterienzahlen: *S. epidermidis* lag in den Mischsuspensionen bezogen auf die erwartete Keimzahl (KBE) zwischen 106 und 134 Prozent vor. *S. aureus* lag in den Mischsuspensionen bezogen auf die erwartete Keimzahl (KBE) zwischen 60 und 122 Prozent vor. Die Werte errechnen sich aus den erwarteten KBE pro Keim und Verdünnungsstufe, sowie dem dazugehörigen Mittelwert in KBE („Mittelwert“).

Zur besseren Übersichtlichkeit wurde das Diagramm gedreht, d. h. die zu untersuchenden Verdünnungsstufen finden sich auf der Abszisse und die Ergebnisse der Keimzählungen auf der Ordinate. Die jeweils mittels Tupfer wiedergefundenen Keimzahlen pro Abstrichquadrat sind auf der Applikate aufgetragen.

Die Tabellen 4.2 und 4.3 zeigen auf den folgenden Seiten die Ergebnisse der beiden mit o. g. Mischsuspension durchgeführten Versuchsreihen. Die grau markierten Versuchstage wurden als offenkundige Ausreißer in der weiteren statistischen Berechnung nicht berücksichtigt. Tabelle 4.4 gibt wiederum eine zusammenfassende Übersicht über die Ergebnisse. Im Mittel konnten 96 Prozent (zwischen 15 und 267 Prozent) der auf die Testfläche aufgetragenen *S. epidermidis* und 9 Prozent (zwischen 0 und 26 Prozent) der auf die Testfläche aufgetragenen *S. aureus* aus der Mischsuspension wiedergefunden werden. Allerdings schwankten die Zahlen sehr stark in den unterschiedlichen Verdünnungsstufen. So nahm die Sensitivität für *S. epidermidis* mit dessen zunehmender Ausgangskonzentration kontinuierlich ab. *S. aureus* konnte nur nach Aufbringen höherer Konzentrationen (100 und 1000 KBE / 100 µl) nachgewiesen werden.

Erw. KBE	Epi 10000	Aur 1000	Epi 1000	Aur 100	Epi 100	Aur 10	Epi 10	Aur 1
30.05.2012	200	10	20	0	0	0	30	0
31.05.2012	390	20	70	0	10	0	20	0
04.06.2012	770	10	120	10	200	0	10	0
05.06.2012	2750	210	280	20	10	0	0	0
06.06.2012	260	30	30	0	10	0	0	0
Mittelwert	1303,33	80	156,67	10	73,33	0	10	0

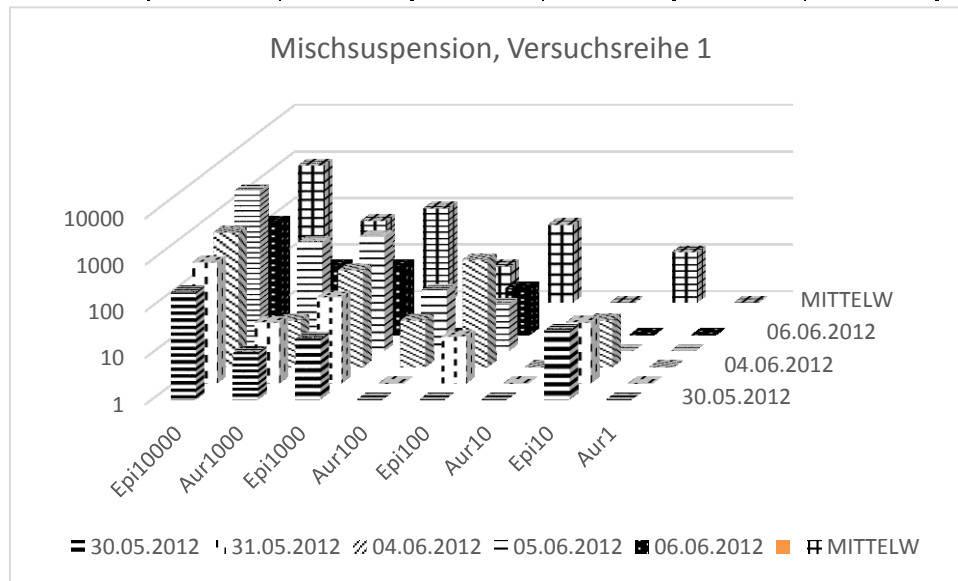


Tabelle 4.2

Legende zu Tabelle 4.2: *S. epidermidis*- und *S. aureus*-Keimzahlen der Messungen aus den Verdünnungsstufen der aufgetragenen Mischsuspensionen in tabellarischer und grafischer Darstellung. In den einzelnen Verdünnungsstufen der Mischsuspensionen (Mengenverhältnis *S. epidermidis* zu *S. aureus* 10 zu 1) wurden jeweils folgende Keimzahlen erwartet („Erw. KBE“): *S. epidermidis* 10000 KBE/ 100 µl „Epi 10000“ und *S. aureus* 1000 KBE/ 100 µl „Aur 1000“; *S. epidermidis* 1000 KBE/ 100 µl „Epi 1000“ und *S. aureus* 100 KBE/ 100 µl „Aur 100“; *S. epidermidis* 100 KBE/ 100 µl „Epi 100“ und *S. aureus* 10 KBE/ 100 µl „Aur 10“ sowie *S. epidermidis* 10 KBE/ 100 µl „Epi 10“ und *S. aureus* 1 KBE/ 100 µl „Aur 1“. In den jeweiligen Mischsuspensionen befanden sich folgende Bakterienzahlen: *S. epidermidis* lag in den Mischsuspensionen bezogen auf die erwartete Keimzahl (KBE) zwischen 13 und 100 Prozent vor, wobei die Sensitivität mit steigender Bakterienzahl abnahm. *S. aureus* lag in den Mischsuspensionen bezogen auf die erwartete Keimzahl (KBE) zwischen 0 und 10 Prozent vor. Die Werte errechnen sich aus den erwarteten KBE pro Keim und Verdünnungsstufe, sowie dem dazugehörigen Mittelwert in KBE („Mittelwert“). Die grau markierten Versuchsreihen wurden von den weiteren Berechnungen ausgeschlossen.

Zur besseren Übersichtlichkeit wurde das Diagramm gedreht, d. h. die zu untersuchenden Verdünnungsstufen finden sich auf der Abszisse und die Ergebnisse der Keimzählungen auf der Ordinate. Die jeweils mittels Tupfer wiedergefundenen Keimzahlen pro Abstrichquadrat sind auf der Applikate aufgetragen.

Erw. KBE	Epi 10000	Aur 1000	Epi 1000	Aur 100	Epi 100	Aur 10	Epi 10	Aur 1
30.05.2012	90	0	10	0	40	0	20	0
31.05.2012	3520	250	750	10	200	0	70	0
04.06.2012	2360	60	460	70	120	0	30	0
05.06.2012	2100	180	330	30	10	0	40	0
06.06.2012	100	0	0	0	0	0	0	0
Mittelwert	2660	163,33	513,33	36,67	110	0	46,67	0

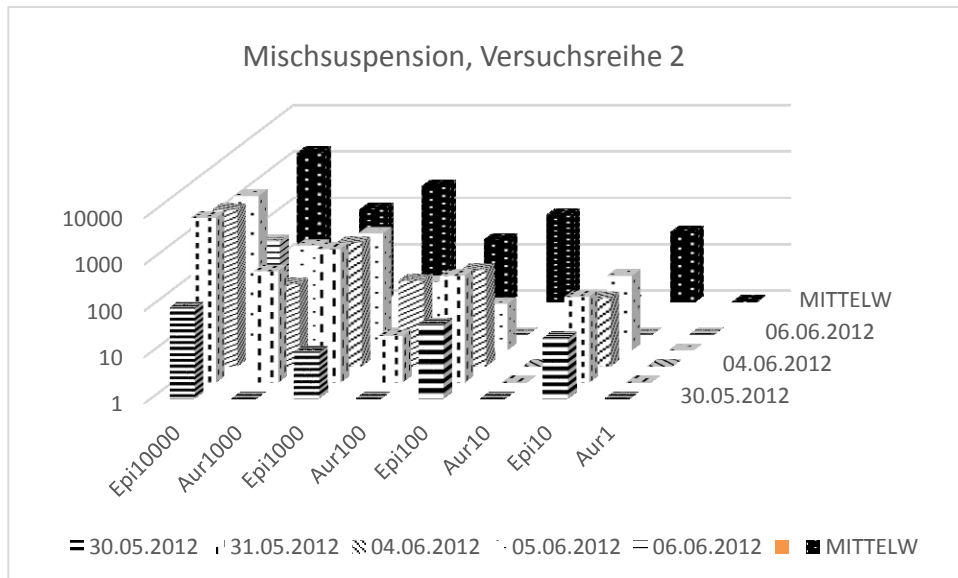
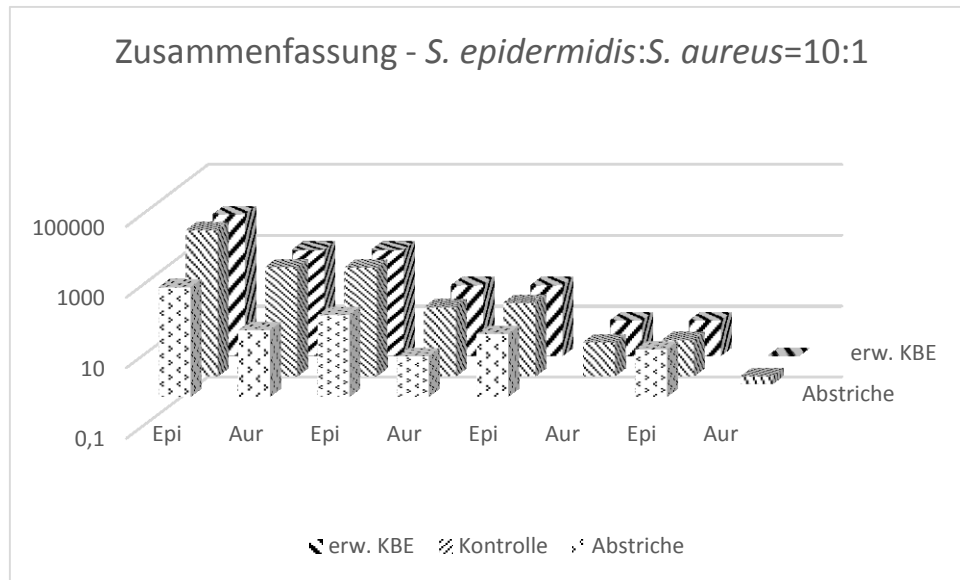


Tabelle 4.3

Legende zu Tabelle 4.3: *S. epidermidis*- und *S. aureus*-Keimzahlen der Messungen aus den Verdünnungsstufen der aufgetragenen Mischsuspensionen in tabellarischer und grafischer Darstellung. In den einzelnen Verdünnungsstufen der Mischsuspensionen (Mengenverhältnis *S. epidermidis* zu *S. aureus* 10 zu 1) wurden jeweils folgende Keimzahlen erwartet („Erw. KBE“): *S. epidermidis* 10000 KBE/ 100 µl „Epi 10000“ und *S. aureus* 1000 KBE/ 100 µl „Aur 1000“; *S. epidermidis* 1000 KBE/ 100 µl „Epi 1000“ und *S. aureus* 100 KBE/ 100 µl „Aur 100“; *S. epidermidis* 100 KBE/ 100 µl „Epi 100“ und *S. aureus* 10 KBE/ 100 µl „Aur 10“ sowie *S. epidermidis* 10 KBE/ 100 µl „Epi 10“ und *S. aureus* 1 KBE/ 100 µl „Aur 1“. In den jeweiligen Mischsuspensionen befanden sich folgende Bakterienzahlen: *S. epidermidis* lag in den Mischsuspensionen bezogen auf die erwartete Keimzahl (KBE) zwischen 27 und 470 Prozent vor, wobei die Sensitivität mit steigender Bakterienzahl abnahm. *S. aureus* lag in den Mischsuspensionen bezogen auf die erwartete Keimzahl (KBE) zwischen 0 und 37 Prozent vor. Die Werte errechnen sich aus den erwarteten KBE pro Keim und Verdünnungsstufe, sowie dem dazugehörigen Mittelwert in KBE („Mittelwert“). Die grau markierten Versuchsreihen wurden von den weiteren Berechnungen ausgeschlossen.

Zur besseren Übersichtlichkeit wurde das Diagramm gedreht, d. h. die zu untersuchenden Verdünnungsstufen finden sich auf der Abszisse und die Ergebnisse der Keimzählungen auf der Ordinate. Die jeweils mittels Tupfer wiedergefundenen Keimzahlen pro Abstrichquadrat sind auf der Applikate aufgetragen.

	Epi 10000	Aur 1000	Epi 1000	Aur 100	Epi 100	Aur 10	Epi 10	Aur 1
erw. KBE	10000	1000	1000	100	100	10	10	1
Kontrolle	13460	1220	1180	90	120	9	10,6	0,6
Abstriche	1981,5	121,67	335	23,34	91,67		28,34	
Anteil	14,72	9,97	28,39	25,93	76,39	0	267,36	0

**Tabelle 4.4**

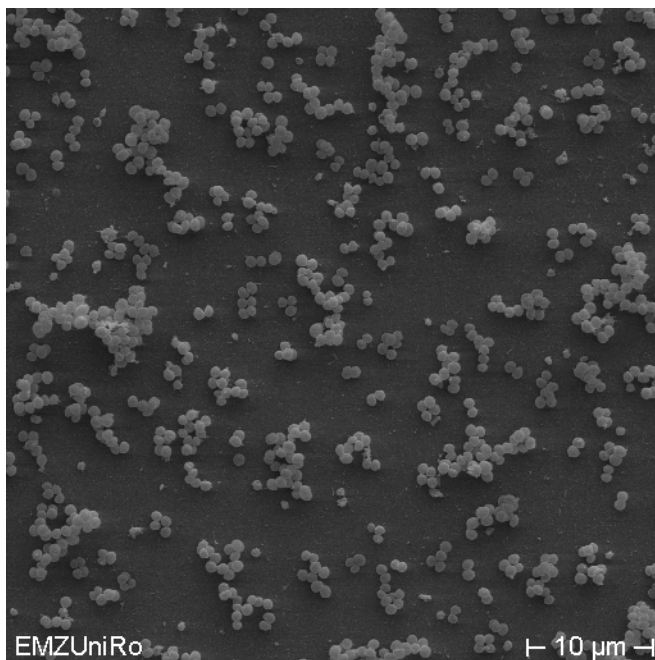
Legende zu Tabelle 4.4: Tabellarische und grafische Darstellung der mittels Abstrich gewonnenen *S.-epidermidis*- und *S.-aureus*-Keimzahlen der Messungen aus den Verdünnungsstufen der aufgetragenen Mischsuspensionen der ersten und zweiten Versuchsreihe („Abstriche“) in Gegenüberstellung zu den tatsächlich in Suspension befindlichen Bakterienzahlen [KBE] („Kontrolle“). Zur Veranschaulichung wurde für jede Verdünnungsstufe der Quotient aus den korrespondierenden Wertepaaren gebildet („Anteil“). Die Werte für *S. epidermidis* betragen (jeweilige Verdünnungsstufen mit „Epi 10000“, „Epi 1000“, „Epi 100“ und „Epi 10“ bezeichnet) 15 bis 267 Prozent, wobei die höchste Sensitivität bei kleinen Bakterienkonzentrationen erreicht wurde. Die Werte für *S. aureus* betragen (jeweilige Verdünnungsstufen mit „Aur 1000“, „Aur 100“, „Aur 10“ und „Aur 1“ bezeichnet) 0 bis rund 26 Prozent.

Zur besseren Übersichtlichkeit wurde das Diagramm gedreht, d. h. die zu untersuchenden Verdünnungsstufen finden sich auf der Abszisse und die Ergebnisse der Keimzählungen auf der Ordinate. Die jeweils mittels Tupfer wiedergefundenen Keimzahlen pro Abstrichquadrat sind auf der Applikate aufgetragen.

3.1.4 Rasterelektronenmikroskopische Bilder

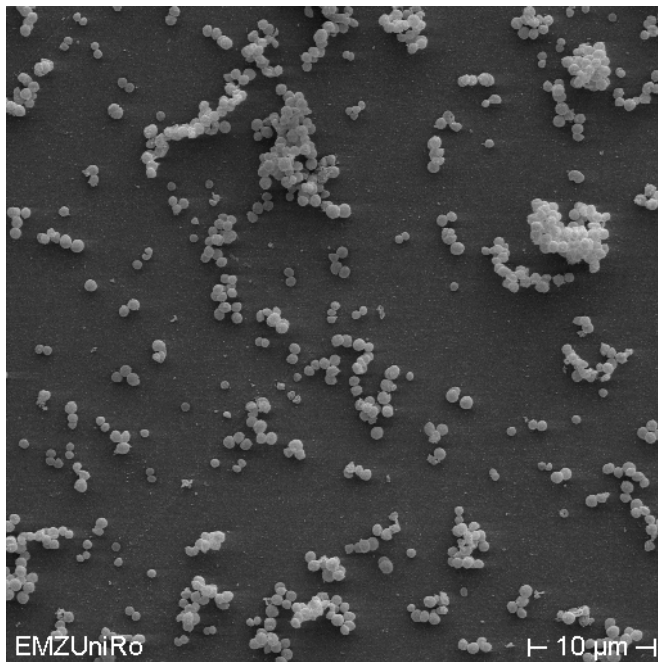
Während der vorgenannten Versuche fiel auf, dass die nachgewiesenen Keimzahlen für die beiden Staphylokokkenstämme stark schwankten. *S. epidermidis* ließ sich im Vergleich zum Auftrag der Reinsuspension besser nach Auftrag der Mischsuspension durch Probennahme mittels Viskosetupfer wiederfinden. Mit *S. aureus* verhielt es sich genau umgekehrt.

Um ein eventuell unterschiedliches Klumpungsverhalten der beiden Staphylokokkenstämme in den Rein- und Mischsuspensionen bzw. die Homogenität der jeweiligen Suspension nachzuweisen, wurden (wie in Kapitel 2.1.8 beschrieben) rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen von auf Deckgläschen aufgetragenen Reinkulturen und der Mischsuspension angefertigt (Grafik 2.1 bis 2.3).



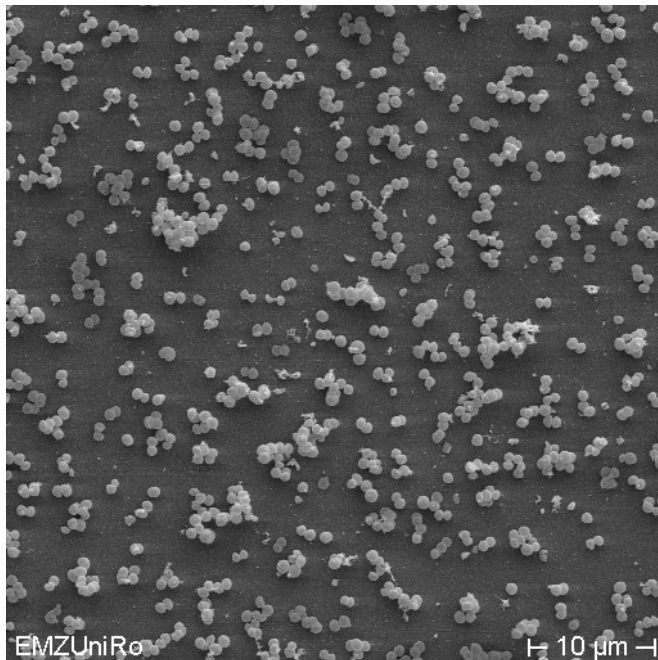
Legende zu Grafik 2.1: Rasterelektronenmikroskopische (REM) –Aufnahme einer Reinsuspension *S. aureus*, Vergrößerung: 2000x.

Grafik 2.1



Legende zu Grafik 2.2: Rasterelektronenmikroskopische (REM) –Aufnahme einer Reinsuspension *S. epidermidis*, Vergrößerung: 2000x.

Grafik 2.2



Legende zu Grafik 2.3: Rasterelektronenmikroskopische (REM) –Aufnahme einer Mischsuspension *S. epidermidis* : *S. aureus* = 10 : 1, Vergrößerung: 2000x.

Grafik 2.3

Die Inspektion der REM-Aufnahmen zeigte, dass unabhängig von der Spezies alle untersuchten Bakterien in der Mehrzahl als einzelne Kokken vorlagen und Diploformen bzw. Haufen deutlich seltener waren. Ferner waren die Anteile dieser verschiedenen Formen für die beiden Spezies und das Speziesgemisch gleich verteilt. Damit sind die quantitativen Ergebnisse der Abstrichversuche unter dem Aspekt der Homogenität der Suspensionen miteinander vergleichbar.

3.2 Ergebnisse der Feldversuche

Die in Kapitel 2.2.1 aufgezählten Griffflächen wurden alle gleichartig durch Abstriche mit Viskosetupfern untersucht. Die Tupfer wurden, wie in Kapitel 2.2.2 beschrieben, aufbereitet und anschließend die Ergebnisse ausgewertet. Koagulase-negative Staphylokokken (z.B. *S. hominis*, *S. capitis*, *S. auricularis* und andere) wurden für die statistische Auswertung als „KnS“ zusammengefasst. Zunächst wurde das jeweilige qualitative Vorkommen unterschiedlicher Bakterienspezies auf den Griffflächen der verschiedenen Stationen des Krankenhauses miteinander verglichen.

Im Folgenden werden diesen Informationen den Ergebnissen aus der Untersuchung der Hand-/Fingerabstriche der Mitarbeiter gegenübergestellt. Anschließend werden die drei jeweils am stärksten betroffenen Griffflächen hinsichtlich Bakterienzahl und Zusammenhang mit der durchgeführten desinfizierenden Flächenreinigung betrachtet.

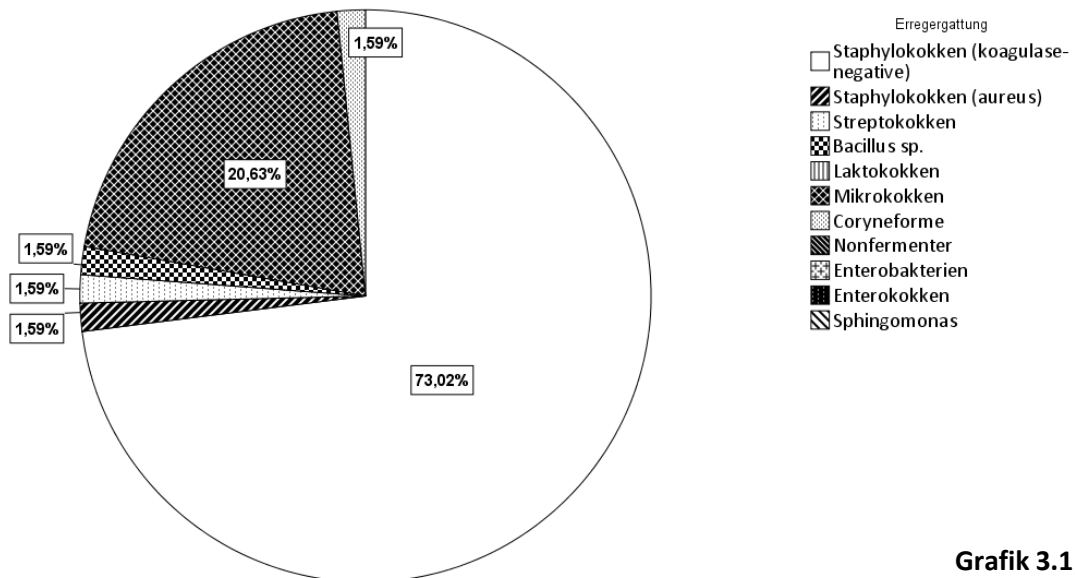
Die quantitativen Untersuchungen (Vergleich vor und nach desinfizierender Flächenreinigung) beziehen sich auf die jeweils am stärksten betroffenen Griffflächen. Die vergleichenden statistischen Untersuchungen wurden ausschließlich auf Grundlage der „KnS“-Zahlen durchgeführt.

Im Rahmen dieser Untersuchungen wurden keine „infektiologisch problematischen“ oder „multiresistenten“ (MRSA (Methicillin-resistente *S.-aureus*-Stämme), MRGN (multiresistente Gram-negative Stäbchenbakterien), VRE (Vancomycin-resistente Enterokokken) u.a.m.) Keime detektiert.

3.2.1 Qualitatives Bakterienspektrum auf den untersuchten Stationen

3.2.1.1 Bakterienspektrum auf den Griffflächen der internistischen Intensivstation (Station 1)

Die Grafik 3.1 zeigt ein Kreisdiagramm, in welchem unabhängig von Abstrichort und -zeitpunkt alle gefundenen Bakteriengattungen anteilig an der Gesamtzahl der nachgewiesenen Keimarten, -gattungen oder -familien dargestellt sind. Mit deutlichem Abstand überwogen die als „KnS“ zusammengefasste Gruppe der Koagulase-negativen Staphylokokken (73 Prozent). Auf die unter dem Sammelbegriff Mikrokokken geführten Bakterien entfielen knapp 21 Prozent. Zu ungefähr gleichen Teilen fanden sich mit je fast 1,6 Prozent Coryneforme, Streptokokken, Bacillus sp. und Koagulase-positive Staphylokokken (*S. aureus*).

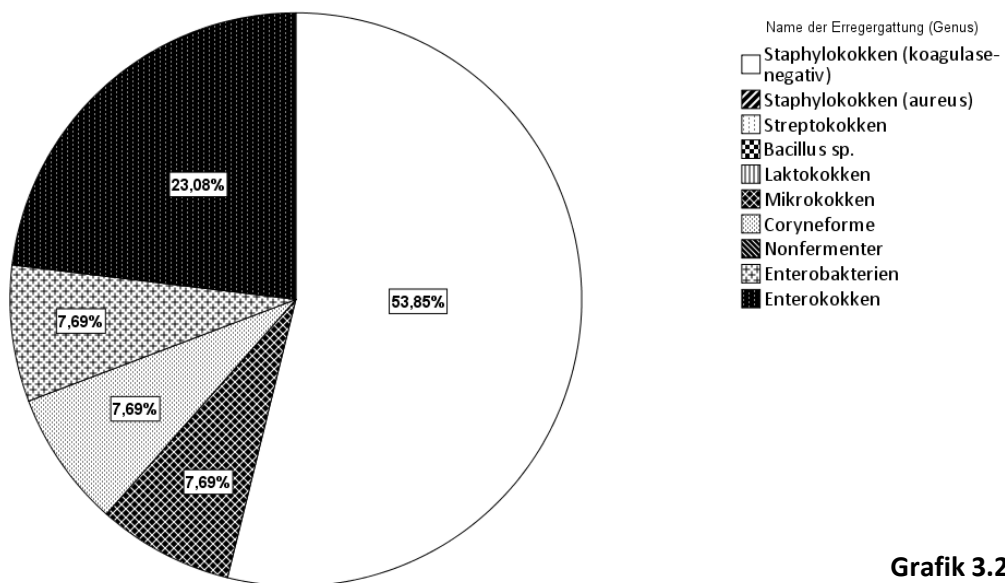


Grafik 3.1

Legende zu Grafik 3.1: Prozentuale Darstellung des Bakterienspektrums auf den Griffflächen der Station 1 qualitativ. Die Familien/ Gattungen der nachgewiesenen Bakterien sind Mustercodes auf der rechten Seite der Grafik zu entnehmen.

3.2.1.2 Bakterienspektrum auf den Handflächen der Mitarbeiter der internistischen Intensivstation (Station 1)

Wie bereits in Kapitel 2.2.1 aufgezeigt, wurden zur Gegenüberstellung der Flora auf Griffflächen und Händen des Personals mithilfe Viskosetupferabstrichen Daumenballen und Handinnenflächen von zufällig ausgewählten Mitgliedern des ärztlichen und pflegerischen Personals untersucht. Das dazugehörige Kreisdiagramm (Grafik 3.2) zeigt die qualitative Verteilung der unterschiedlichen Bakterienspezies. Auch auf den Handflächen des Personals fanden sich vor allem „KnS“. Der Anteil am gesamten Spektrum betrug knapp 54 Prozent. Am zweithäufigsten wurden Enterokokken gefunden, die rund 23 Prozent der nachgewiesenen Keimarten ausmachten. Zudem fanden sich zu ungefähr gleichen Teilen (je knapp 7,7 Prozent) Enterobakterien, Mikrokokken und coryneforme Stäbe.

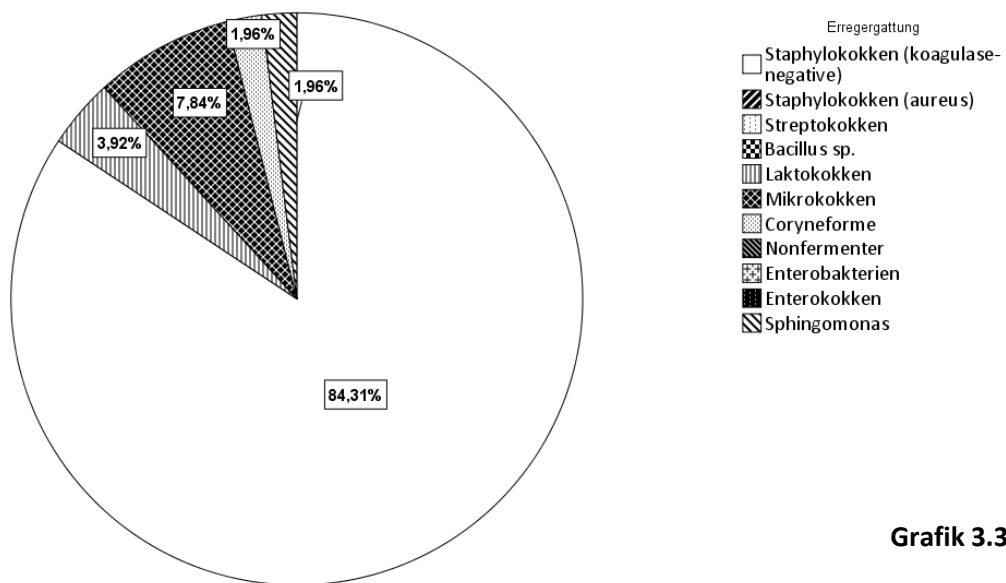


Grafik 3.2

Legende zu Grafik 3.2: Prozentuale Darstellung des Bakterienspektrums auf den Handflächenflächen des Personals der Station 1 qualitativ. Die Familien/ Gattungen der nachgewiesenen Bakterien sind Muster-codes auf der rechten Seite der Grafik zu entnehmen.

3.2.1.3 Bakterienspektrum auf den Griffflächen der anästhesiologischen Intensivstation (Station 2)

Auf den untersuchten Griffflächen der anästhesiologischen Intensivstation stellten die Koagulase-negativen Staphylokokken mit über 84 Prozent den höchsten Anteil der nachgewiesenen Keimarten. 8 Prozent der gefundenen Bakterien konnten als Mikrokokken klassifiziert werden. Bei knapp vier Prozent der untersuchten Bakterien handelte es sich um Laktokokken und bei je ungefähr zwei Prozent um coryneforme Stäbe oder Sphingomonas (*S. paucimobilis*). Die Ergebnisse sind in Grafik 3.3 dargestellt.

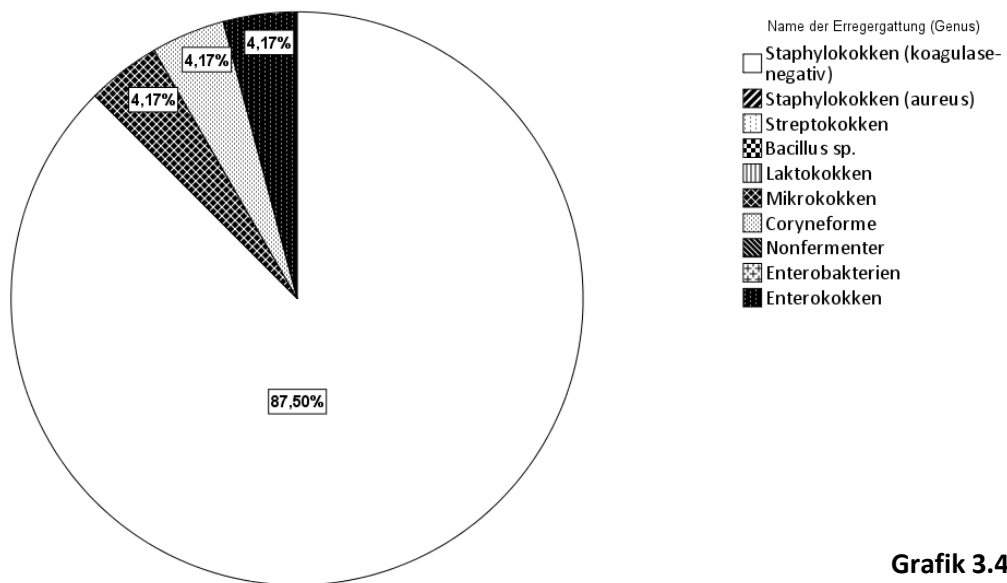


Grafik 3.3

Legende zu Grafik 3.3: Prozentuale Darstellung des Bakterienspektrums auf den Griffflächen der Station 2 qualitativ. Die Familien / Gattungen der nachgewiesenen Bakterien sind Mustercodes auf der rechten Seite der Grafik zu entnehmen.

3.2.1.4 Bakterienspektrum auf den Handflächen der Mitarbeiter der anästhesiologischen Intensivstation (Station 2)

Grafik 3.4 zeigt mittels Kreisdiagramm das Bakterienspektrum auf den Handflächen der Mitarbeiter der anästhesiologischen Intensivstation. Hier waren über 87 Prozent den Koagulase-negativen Staphylokokken zuzuordnen. Ungefähr zu gleichen Teilen fanden sich zudem (mit je 4 Prozent) Enterokokken, coryneforme Stäbe und Mikrokokken.



Grafik 3.4

Legende zu Grafik 3.4: Prozentuale Darstellung des Bakterienspektrums auf den Handflächenflächen des Personals der Station 2 qualitativ. Die Familien/ Gattungen der nachgewiesenen Bakterien sind Mustercodes auf der rechten Seite der Grafik zu entnehmen.

3.2.2 Quantitative Untersuchung der KnS auf den Griffflächen

Wie in Kapitel 3.2 angekündigt, wurden für die quantitativen statistischen Untersuchungen ausschließlich die Mengen an Koagulase-negativen Staphylokokken verwendet. Zudem fanden nur die drei am stärksten kontaminierten Flächen Eingang in die genauere Betrachtung.

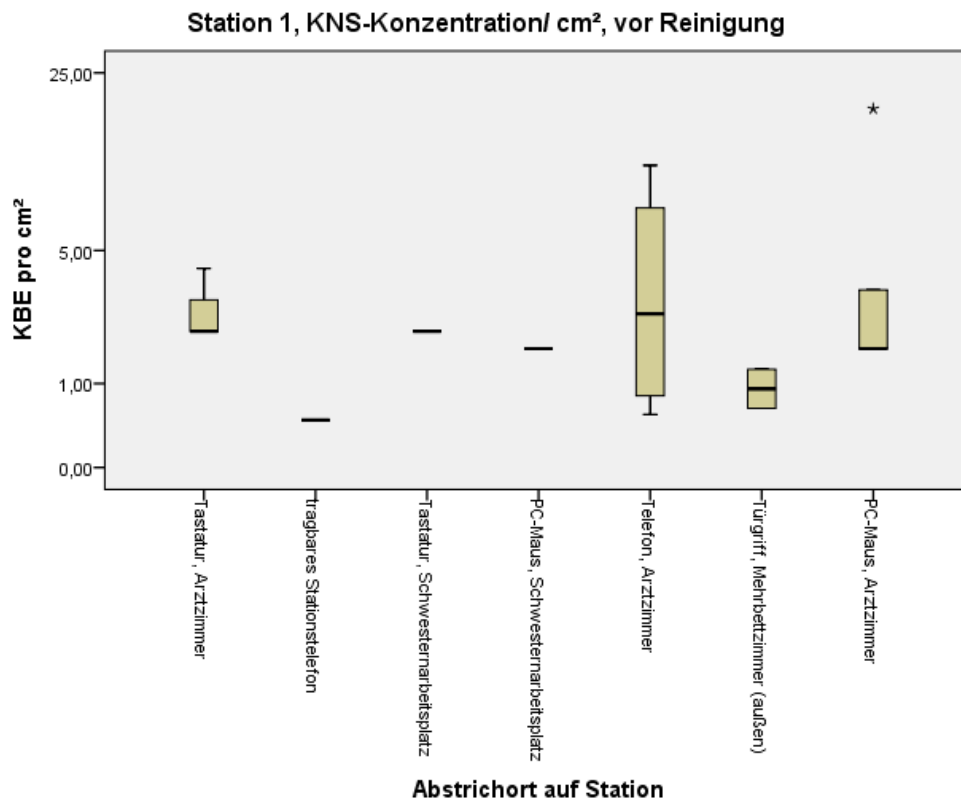
Zunächst soll ein erster Überblick über die KnS-Konzentrationen (in KBE pro cm²) auf den unterschiedlichen Griffflächen erfolgen. Zu diesem Zweck wurden vergleichende Boxplots pro Station und Abstrichzeitpunkt (Station 1 oder 2 bzw. vor oder nach desinfizierender Reinigung) angefertigt.

3.2.2.1 Übersicht über die flächennormierten KnS-Konzentrationen der internistischen Intensivstation (Station 1)

Grafik 3.5 zeigt vergleichend für die hier ausschließlich betrachteten Koagulase-negativen Staphylokokken die Keimkonzentrationen pro Quadratzentimeter auf den untersuchten Griffflächen vor der flächendesinfizierenden Reinigung, Grafik 3.6 entsprechend danach. Alle untersuchten Flächen wurden dazu, wie in Kapitel 2.2.1 beschrieben, vor und nach einer desinfizierenden Flächenreinigung dreimal mit einem Stieltupfer abgestrichen.

Auf der Station 1 fanden sich die höchsten KnS-Konzentration auf der Grifffläche des Telefonhörers, der PC-Maus und der Tastatur im Arztzimmer. Diese Konzentrationen von den drei Flächen werden weiter unten statistisch untersucht. Die KnS-Konzentrationen auf den übrigen untersuchten Griffflächen schwankten zwischen 0,5 und 5 KBE pro cm².

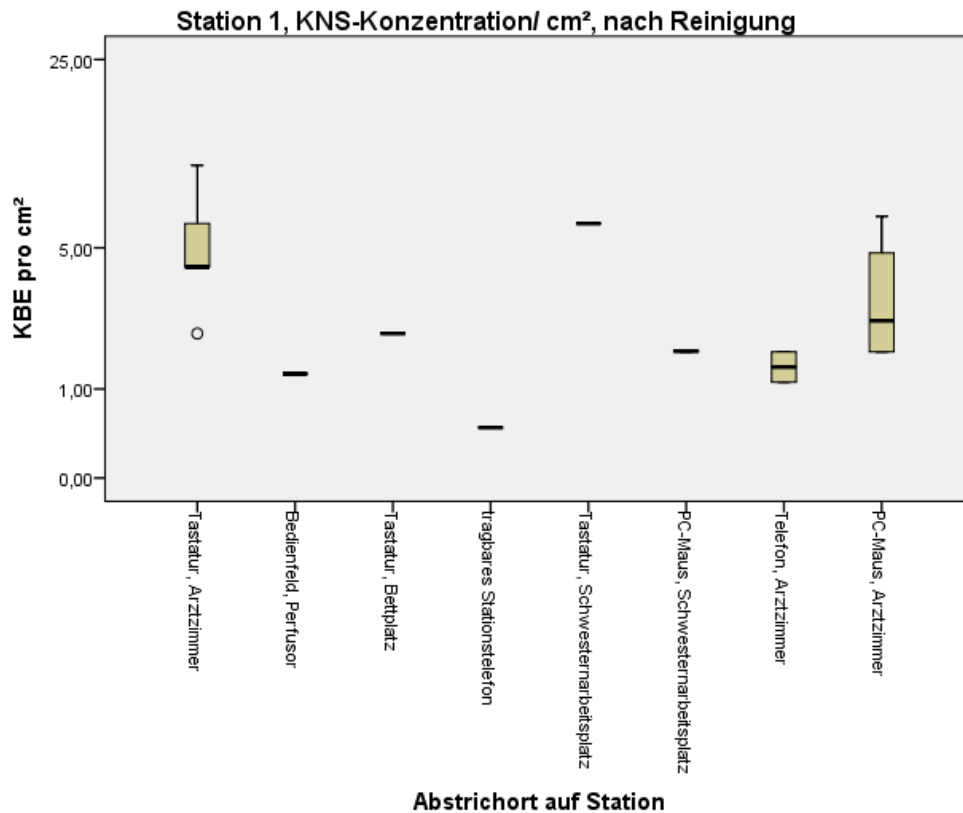
Auf dem Türgriff des Isolationszimmers konnten mittels Tupfer weder vor noch nach der desinfizierenden Flächenreinigung KnS nachgewiesen werden.



Grafik 3.5

Legende zu Grafik 3.5: Konzentration der Koagulase-negativen Staphylokokken (KnS) auf verschiedenen Oberflächen der Station 1 vor Reinigung der entsprechenden Flächen. Mengenangaben in KBE/ cm².

Die einzelnen Abstrichorte/ Griffflächen sind auf der Abszisse, die Keimkonzentrationen auf der Ordinate aufgetragen. Zur besseren Übersichtlichkeit bei teils stark unterschiedlichen Bakterienkonzentrationen wurde eine logarithmische Skalierung (Basis „5“) gewählt. Die Griffflächen, von denen in allen Untersuchungen kein Bakterienwachstum nachgewiesen werden konnte, wurden in der grafischen Darstellung weggelassen. Selbstverständlich werden diese aber im Text erwähnt.

**Grafik 3.6**

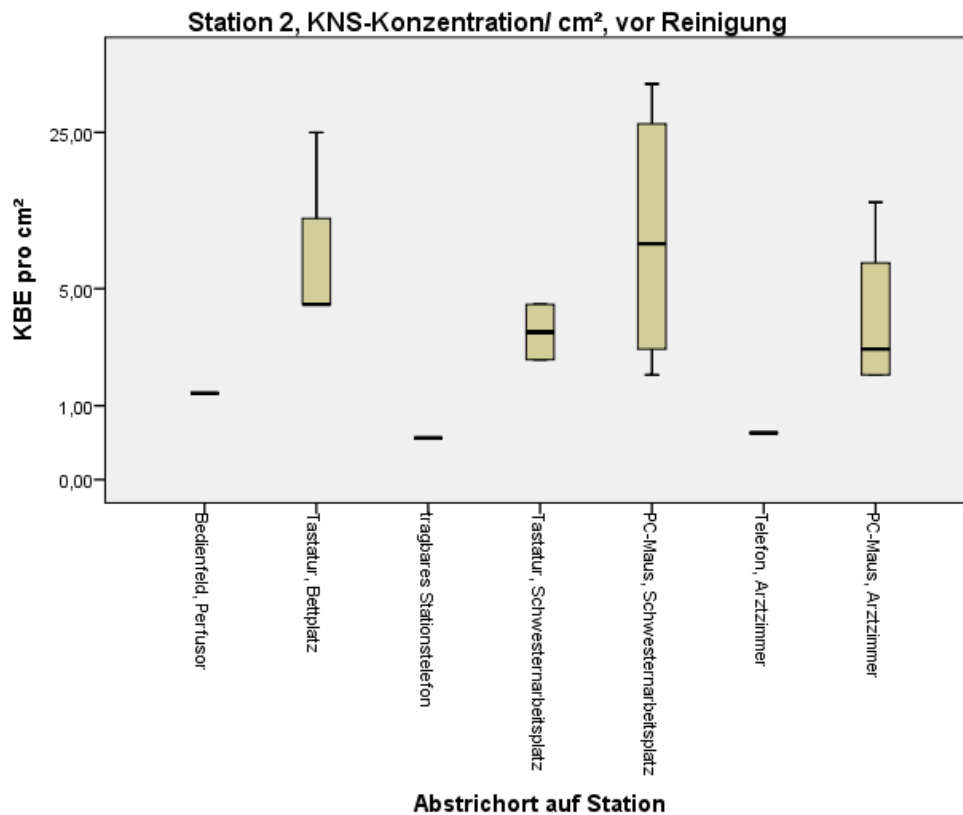
Legende zu Grafik 3.6: Konzentration der Koagulase-negativen Staphylokokken (KnS) auf verschiedenen Oberflächen der Station 1 nach Reinigung der entsprechenden Flächen. Mengenangaben in KBE/ cm².

Die einzelnen Abstrichorte/ Griffflächen sind auf der Abszisse, die Keimkonzentrationen auf der Ordinate aufgetragen. Zur besseren Übersichtlichkeit bei teils stark unterschiedlichen Bakterienkonzentrationen wurde eine logarithmische Skalierung (Basis „5“) gewählt. Die Griffflächen, von denen in allen Untersuchungen kein Bakterienwachstum nachgewiesen werden konnte, wurden in der grafischen Darstellung weggelassen. Selbstverständlich werden diese aber im Text erwähnt.

3.2.2.2 Übersicht über die flächennormierten KnS-Konzentrationen der anästhesiologischen Intensivstation (Station 2)

Die Grafiken 3.7 und 3.8 veranschaulichen die KnS-Konzentrationen auf den untersuchten Griff-flächen der Station 2. Wie auf Station 1 gehörte auch auf dieser Station die PC-Maus im Arztzimmer zu den am stärksten mit KnS kontaminierten Flächen. Daneben fielen die PC-Tastatur des Patienten-Bettplatzes und die PC-Maus im Schwesternstützpunkt durch ihre hohen KnS-Konzentrationen auf. Die Keimzahlen dieser drei Flächen werden weiter unten statistisch analysiert. Die KnS-Konzentrationen auf den übrigen Flächen schwankten zwischen 0,5 und 5 KBE pro cm².

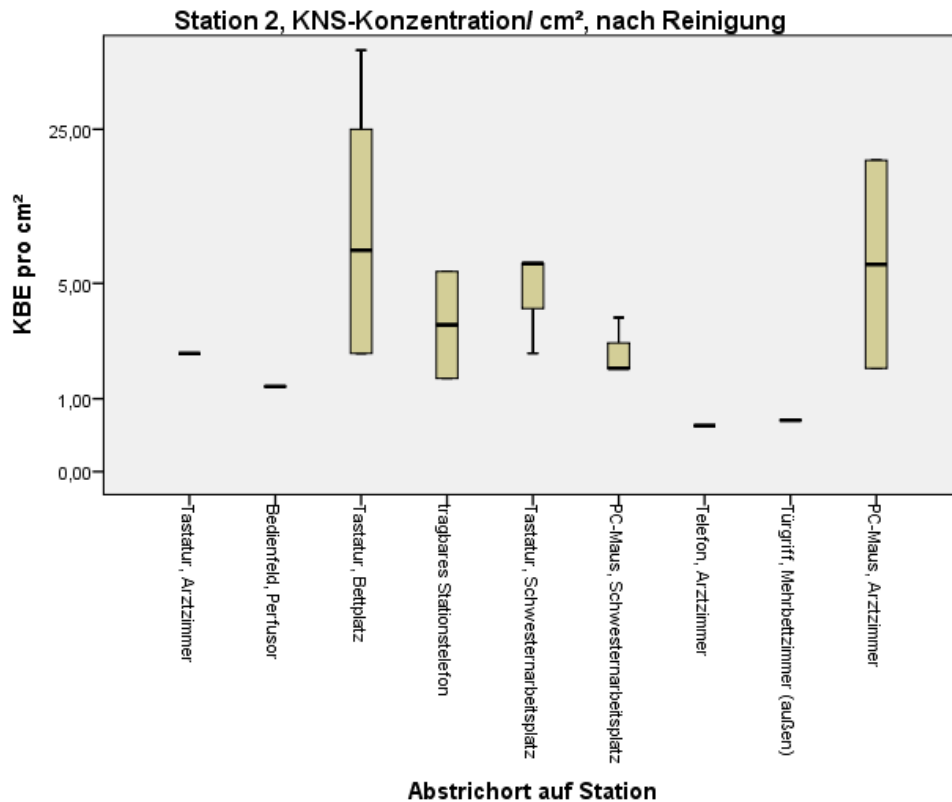
Auf dem Türgriff des Isolationszimmers wurde mittels Tupfer weder vor noch nach der desinfizierenden Flächenreinigung KnS nachgewiesen.



Grafik 3.7

Legende zu Grafik 3.7: Konzentration der Koagulase-negativen Staphylokokken (KnS) auf verschiedenen Oberflächen der Station 2 vor Reinigung der entsprechenden Flächen. Mengenangaben in KBE/ cm².

Die einzelnen Abstrichorte/ Griffflächen sind auf der Abszisse, die Keimkonzentrationen auf der Ordinate aufgetragen. Zur besseren Übersichtlichkeit bei teils stark unterschiedlichen Bakterienkonzentrationen wurde eine logarithmische Skalierung (Basis „5“) gewählt. Die Griffflächen, von denen in allen Untersuchungen kein Bakterienwachstum nachgewiesen werden konnte, wurden in der grafischen Darstellung weggelassen. Selbstverständlich werden diese aber im Text erwähnt.



Grafik 3.8

Legende zu Grafik 3.8: Konzentration der Koagulase-negativen Staphylokokken (KnS) auf verschiedenen Oberflächen der Station 2 nach Reinigung der entsprechenden Flächen. Mengenangaben in KBE/ cm².

Die einzelnen Abstrichorte/ Griffflächen sind auf der Abszisse, die Keimkonzentrationen auf der Ordinate aufgetragen. Zur besseren Übersichtlichkeit bei teils stark unterschiedlichen Bakterienkonzentrationen wurde eine logarithmische Skalierung (Basis „5“) gewählt. Die Griffflächen, von denen in allen Untersuchungen kein Bakterienwachstum nachgewiesen werden konnte, wurden in der grafischen Darstellung weggelassen. Selbstverständlich werden diese aber im Text erwähnt.

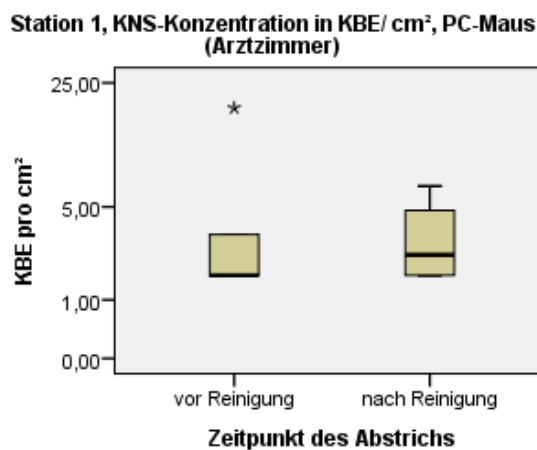
3.2.3 Detaillierte Betrachtung der Flächen mit den höchsten Bakterienkonzentrationen

In den folgenden Unterkapiteln werden die in Kapitel 3.2.2.1. und 3.2.2.2. mit den höchsten KnS-Konzentrationen aufgefallenen Griffflächen einzeln aufgeführt. Zudem wird untersucht, ob ein statistischer Zusammenhang zwischen KBE-Konzentration vor und nach der desinfizierenden Reinigung besteht. Dies erfolgt, wie in Kapitel 2.4 beschrieben, mittels Mann-Whitney-U-Test für unverbundene Stichproben. Die Ergebnisse werden mittels Boxplot-Diagramm sowie tabellarisch veranschaulicht.

Die Signifikanzanalyse für die jeweils untersuchte Grifffläche wird durch ein Balkendiagramm und eine Tabelle veranschaulicht. Diese wurden dem verwendeten Programm IBM SPSS Statistics entnommen.

3.2.3.1 Station 1, PC-Maus im Arztzimmer

In Grafik 4.1 werden die Konzentrationen der Koagulase-negativen Staphylokokken vor und nach der desinfizierenden Reinigung mittels Boxplot-Diagramm dargestellt. Die dazugehörigen Zahlenwerte sind den Tabellen 5.1 (vor Reinigung) und Tabelle 5.2 (nach Reinigung) zu entnehmen. In Tabelle 5.1 ist zu sehen, dass in drei durchgeführten Abstrichen fünfmal KnS gefunden wurde. Das heißt, es wurden fünf verschiedene, sich in ihrem Aussehen unterscheidende und voneinander unabhängige KnS mit jeweils unterschiedlich hoher Zahl koloniebildender Einheiten gefunden. Die Konzentrationen aus den einzelnen Abstrichen vor Reinigung wurden zusammengefasst. Die ermittelte KnS-Konzentration auf der PC-Maus im Arztzimmer der ersten Station schwankte zwischen 1,67 und 18,33 (im Mittel 5,334) KBE/ cm². Tabelle 5.2 zeigt, dass in drei Abstrichen nach der Reinigung vier unterschiedliche KnS gefunden wurden. Deren Konzentration schwankte zwischen 1,67 und 6,67 (im Mittel 3,335) KBE/ cm².



Legende zu Grafik 4.1: Konzentration der Koagulase-negativen Staphylokokken (KnS) auf der PC-Maus des Arztzimmers der Station 1 vor und nach Reinigung dieser Oberfläche. Mengenangaben in KBE/ cm².

Grafik 4.1

Deskriptive Statistik

	N	Minimum	Maximum	Summe	Mittelwert	Standardabw.
KBE pro cm ²	5	1.67	18.33	26.67	5.3340	7.30046
Gültige Werte (Listenweise)	5					

Tabelle 5.1

Deskriptive Statistik

	N	Minimum	Maximum	Summe	Mittelwert	Standardabw.
KBE pro cm ²	4	1.67	6.67	13.34	3.3350	2.35702
Gültige Werte (Listenweise)	4					

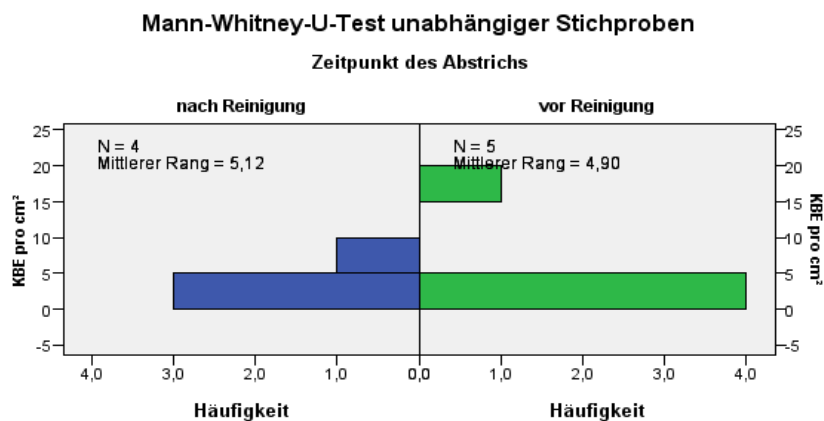
Tabelle 5.2

Legende zu Tabelle 5.1 und 5.2: Konzentration der Koagulase-negativen Staphylokokken (KnS) auf der PC-Maus des Arztzimmers der Station 1 vor (**Tabelle 5.1**) und nach (**Tabelle 5.2**) Reinigung dieser Oberfläche. Mengenangaben in KBE/ cm².

Die Signifikanzanalyse für die o.g. untersuchte Grifffläche findet sich in Tabelle 5.3 und Grafik 4.2. Da der errechnete p-Wert 1,0 betrug, musste die Nullhypothese beibehalten werden. Es bestand also kein signifikanter Zusammenhang zwischen der KBE-Konzentration und der desinfizierenden Flächenreinigung.

Übersicht über Hypothesentest				
	Nullhypothese	Test	Sig.	Entscheidung
1	Die Verteilung von KBE pro cm ² ist über Kategorien von Zeitpunkt des Abstrichs gleich.	Mann-Whitney-U-Test unabhängiger Stichproben	1 ¹	Nullhypothese behalten.
Asymptotische Signifikanzen werden angezeigt. Das Signifikanzniveau ist ,05.				
¹ Für diesen Test wird die exakte Signifikanz angezeigt.				

Tabelle 5.3

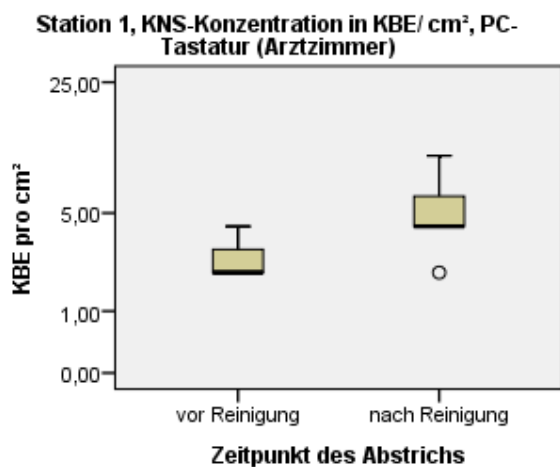


Grafik 4.2

Legende zu Tabelle 5.3 und Grafik 4.2: Signifikanzanalyse der Keimzahlmessung für die Oberfläche der PC-Maus des Arztzimmers der Station 1.

3.2.3.2 Station 1, PC-Tastatur im Arztzimmer

Das Boxplot-Diagramm (Grafik 5.1) zeigt die Keimkonzentrationen auf der untersuchten PC-Tastatur im Arztzimmer der Station 1. Die der Tabelle 6.1 zu entnehmenden Zahlen veranschaulichen, dass insgesamt in drei Abstrichuntersuchungen dreimal KnS in unterschiedlicher Konzentration gefunden wurden. Die Konzentration vor Reinigung schwankte zwischen 2,08 und 4,17 (im Mittel 2,7767) KBE/cm². In Tabelle 6.2 zeigt sich, dass in den drei durchgeführten Abstrichen nach Reinigung siebenmal unterschiedliche KnS gefunden wurden. Die Keimkonzentration schwankte zwischen 2,08 und 10,41 (im Mittel 5,3571) KBE/cm².



Legende zu Grafik 5.1: Konzentration der Koagulase-negativen Staphylokokken (KnS) auf der PC-Tastatur des Arztzimmers der Station 1 vor und nach Reinigung dieser Oberfläche. Mengenangaben in KBE/ cm².

Grafik 5.1

Deskriptive Statistik

	N	Minimum	Maximum	Summe	Mittelwert	Standardabw.
KBE pro cm ²	3	2.08	4.17	8.33	2.7767	1.20666
Gültige Werte (Listenweise)	3					

Tabelle 6.1

Deskriptive Statistik

	N	Minimum	Maximum	Summe	Mittelwert	Standardabw.
KBE pro cm ²	7	2.08	10.41	37.50	5.3571	2.64869
Gültige Werte (Listenweise)	7					

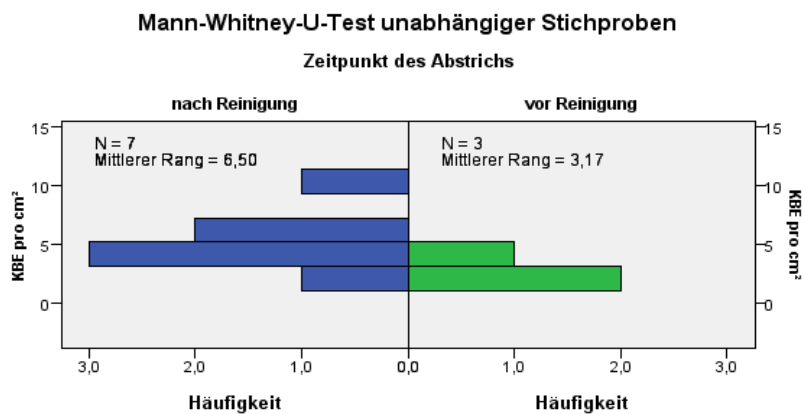
Tabelle 6.2

Legende zu Tabelle 6.1 und 6.2: Konzentration der Koagulase-negativen Staphylokokken (KnS) auf der PC-Tastatur des Arztzimmers der Station 1 vor (**Tabelle 6.1**) und nach (**Tabelle 6.2**) Reinigung dieser Oberfläche. Mengenangaben in KBE/ cm².

Die Signifikanzanalyse in Tabelle 6.3 bzw. Grafik 5.2 zeigt einen p-Wert von 0,1167, sodass die Nullhypothese beibehalten werden musste. Es konnte somit kein signifikanter Zusammenhang zwischen der KBE-Konzentration und der desinfizierenden Flächenreinigung nachgewiesen werden.

Übersicht über Hypothesentest				
	Nullhypothese	Test	Sig.	Entscheidung
1	Die Verteilung von KBE pro cm ² ist über Kategorien von Zeitpunkt des Abstrichs gleich.	Mann-Whitney-U-Test unabhängiger Stichproben	0,1167 ¹	Nullhypothese behalten.
Asymptotische Signifikanz werden angezeigt. Das Signifikanzniveau ist ,05.				
¹ Für diesen Test wird die exakte Signifikanz angezeigt.				

Tabelle 6.3

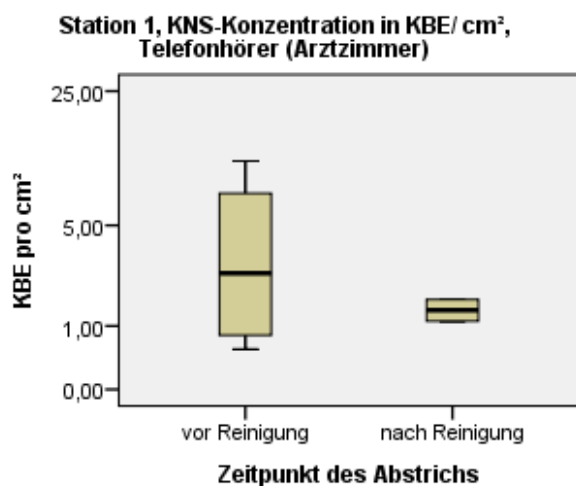


Grafik 5.2

Legende zu Tabelle 6.3 und Grafik 5.2: Signifikanzanalyse der Keimzahlmessung für die Oberfläche der PC-Tastatur des Arztzimmers der Station 1.

3.2.3.3 Station 1, Telefon im Arztzimmer

Die für den untersuchten Telefonhörer im Arztzimmer der Station 1 erhobenen Zahlen finden sich zum einen veranschaulicht im Boxplotdiagramm (Grafik 6.1) sowie den Tabellen 7.1 und 7.2. Es ist zu sehen, dass in den drei durchgeführten Abstrichen vor Reinigung viermal unterschiedliche Koagulase-negative Staphylokokken gefunden wurden. Deren Konzentration schwankte zwischen 0,55 und 11,11 (im Mittel 4,4425) KBE/ cm². Nach Reinigung wurden zweimal unterschiedliche KnS gefunden. Deren Konzentration schwankte zwischen 1,11 und 1,67 (im Mittel 1,39) KBE/ cm².



Legende zu Grafik 6.1: Konzentration der Koagulase-negativen Staphylokokken (KnS) auf dem Telefonhörer des Arztzimmers der Station 1 vor und nach Reinigung dieser Oberfläche. Mengenangaben in KBE/ cm².

Grafik 6.1

Deskriptive Statistik

	N	Minimum	Maximum	Summe	Mittelwert	Standardabw.
KBE pro cm ²	4	.55	11.11	17.77	4.4425	4.86564
Gültige Werte (Listenweise)	4					

Tabelle 7.1

Deskriptive Statistik

	N	Minimum	Maximum	Summe	Mittelwert	Standardabw.
KBE pro cm ²	2	1.11	1.67	2.78	1.3900	.39598
Gültige Werte (Listenweise)	2					

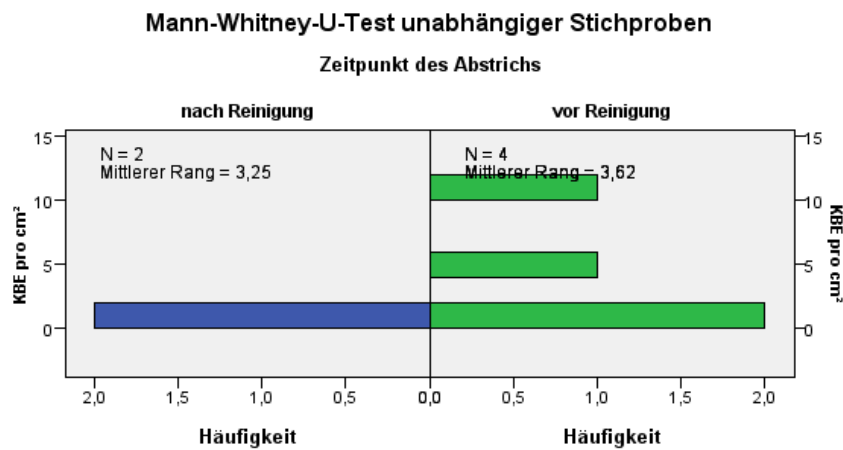
Tabelle 7.2

Legende zu Tabelle 7.1 und 7.2: Konzentration der Koagulase-negativen Staphylokokken (KnS) auf dem Telefonhörer des Arztzimmers der Station 1 vor (**Tabelle 7.1**) und nach (**Tabelle 7.2**) Reinigung dieser Oberfläche. Mengenangaben in KBE/ cm².

Die Signifikanzanalyse in Tabelle 7.3 und Grafik 6.2 zeigt einen p-Wert von 0,8, sodass die Nullhypothese beibehalten werden musste, da kein signifikanter Zusammenhang zwischen KBE-Konzentration und desinfizierender Flächenreinigung bestand.

Übersicht über Hypothesentest				
	Nullhypothese	Test	Sig.	Entscheidung
1	Die Verteilung von KBE pro cm ² ist über Kategorien von Zeitpunkt des Abstrichs gleich.	Mann-Whitney-U-Test unabhängiger Stichproben	0,8 ¹	Nullhypothese behalten.
Asymptotische Signifikanz werden angezeigt. Das Signifikanzniveau ist ,05.				
¹ Für diesen Test wird die exakte Signifikanz angezeigt.				

Tabelle 7.3



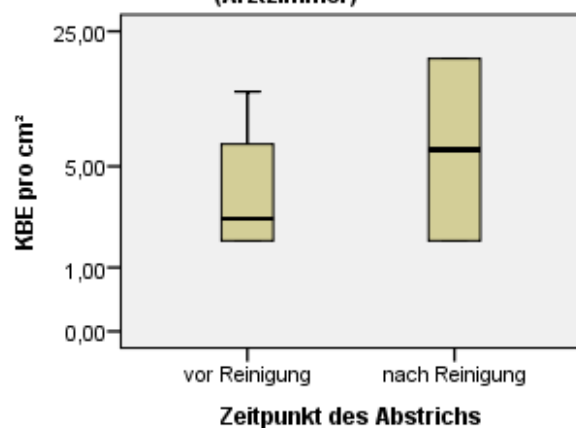
Grafik 6.2

Legende zu Tabelle 7.3 und Grafik 6.2: Signifikanzanalyse der Keimzahlmessung für die Oberfläche des Telefonhörers des Arztzimmers der Station 1.

3.2.3.4 Station 2, PC-Maus im Arztzimmer

Aus den in Grafik 7.1 und den in den Tabellen 8.1 und 8.2 dargestellten Zahlen zeigt sich folgendes Resultat: Vor Reinigung wurden in den drei durchgeführten Abstrichuntersuchungen viermal unterschiedliche KnS nachgewiesen. Deren Konzentration schwankte zwischen 1,67 und 12,50 (im Mittel 4,7925) KBE/ cm². Nach Reinigung wurden in den durchgeführten Abstrichen zweimal unterschiedliche KnS detektiert. Die Konzentration schwankte hier zwischen 1,67 und 18,33 (im Mittel 10,0) KBE/ cm².

Station 2, KNS-Konzentration in KBE/ cm², PC-Maus (Arztzimmer)



Legende zu Grafik 7.1: Konzentration der Koagulase-negativen Staphylokokken (KnS) auf der PC-Maus des Arztzimmers der Station 2 vor und nach Reinigung dieser Oberfläche. Mengenangaben in KBE/ cm².

Grafik 7.1

Deskriptive Statistik

	N	Minimum	Maximum	Summe	Mittelwert	Standardabw.
KBE pro cm ²	4	1.67	12.50	19.17	4.7925	5.19758
Gültige Werte (Listenweise)	4					

Tabelle 8.1

Deskriptive Statistik

	N	Minimum	Maximum	Summe	Mittelwert	Standardabw.
KBE pro cm ²	2	1.67	18.33	20.00	10.0000	11.78040
Gültige Werte (Listenweise)	2					

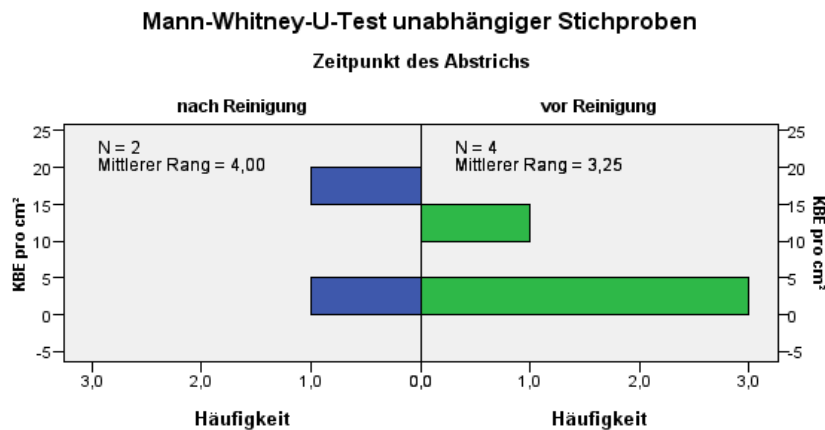
Tabelle 8.2

Legende zu Tabelle 8.1 und 8.2: Konzentration der Koagulase-negativen Staphylokokken (KnS) auf der PC-Maus des Arztzimmers der Station 2 vor (**Tabelle 8.1**) und nach (**Tabelle 8.2**) Reinigung dieser Oberfläche. Mengenangaben in KBE/ cm².

Die Signifikanzanalyse in Tabelle 8.3 und Grafik 7.2 zeigt einen p-Wert von 1,0, sodass die Nullhypothese beibehalten werden musste, da kein signifikanter Zusammenhang zwischen KBE-Konzentration und desinfizierender Flächenreinigung bestand.

Übersicht über Hypothesentest				
	Nullhypothese	Test	Sig.	Entscheidung
1	Die Verteilung von KBE pro cm ² ist über Kategorien von Zeitpunkt des Abstrichs gleich.	Mann-Whitney-U-Test unabhängiger Stichproben	1 ¹	Nullhypothese behalten.
Asymptotische Signifikanzen werden angezeigt. Das Signifikanzniveau ist ,05.				
¹ Für diesen Test wird die exakte Signifikanz angezeigt.				

Tabelle 8.3

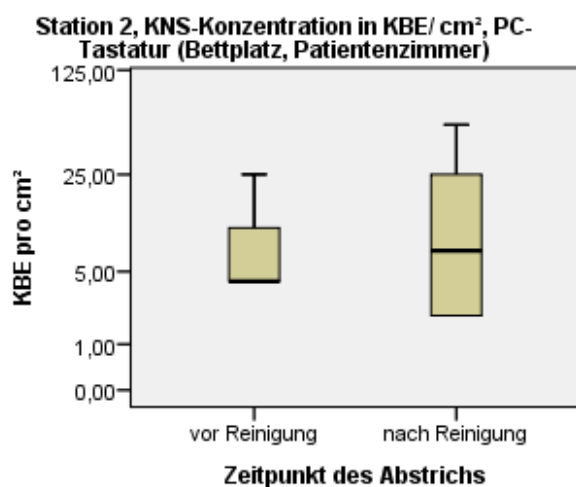


Grafik 7.2

Legende zu Tabelle 8.3 und Grafik 7.2: Signifikanzanalyse der Keimzahlmessung für die Oberfläche der PC-Maus des Arztzimmers der Station 2.

3.2.3.5 Station 2, Tastatur am Patientenbettplatz

Das Boxplot-Diagramm (Grafik 8.1) zeigt die Keimkonzentrationen auf der untersuchten PC-Tastatur eines Patientenbettplatzes der zweiten Station. Die der Tabelle 9.1 zu entnehmenden Zahlen belegen, dass insgesamt in drei Abstrichuntersuchungen dreimal KnS in unterschiedlicher Konzentration gefunden wurden. Die Konzentration vor Reinigung schwankte zwischen 4,17 und 25,0 (im Mittel 11,1133) KBE/ cm². Dagegen wurden in den drei durchgeführten Abstrichen nach Reinigung (Tab. 9.2) sechsmal unterschiedliche KnS gefunden wurden. Die KBE-Konzentration schwankte zwischen 2,08 und 54,17 (im Mittel 16,3183) KBE/ cm².



Legende zu Grafik 8.1: Konzentration der Koagulase-negativen Staphylokokken (KnS) auf der Bettplatztastatur eines Patientenzimmers der Station 2 vor und nach Reinigung dieser Oberfläche. Mengenangaben in KBE/ cm².

Grafik 8.1

Deskriptive Statistik

	N	Minimum	Maximum	Summe	Mittelwert	Standardabw.
KBE pro cm ²	3	4.17	25.00	33.34	11.1133	12.02621
Gültige Werte (Listenweise)	3					

Tabelle 9.1

Deskriptive Statistik

	N	Minimum	Maximum	Summe	Mittelwert	Standardabw.
KBE pro cm ²	6	2.08	54.17	97.91	16.3183	20.39002
Gültige Werte (Listenweise)	6					

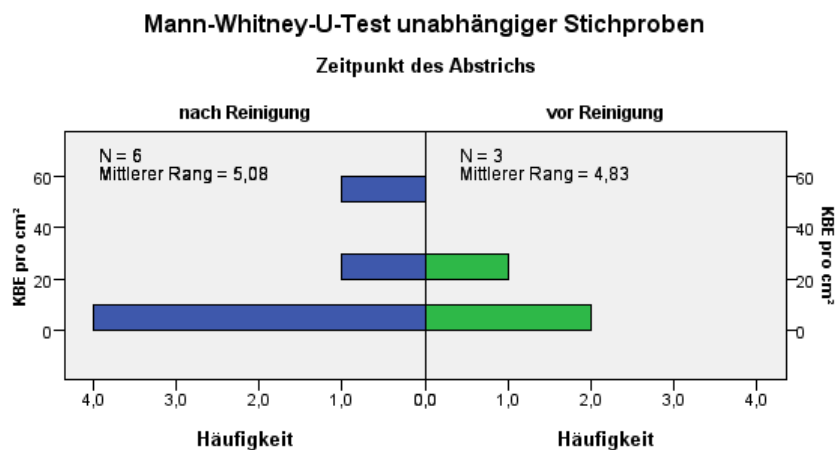
Tabelle 9.2

Legende zu Tabelle 9.1 und 9.2: Konzentration der Koagulase-negativen Staphylokokken (KnS) auf der Bettplatztastatur eines Patientenzimmers der Station 2 vor (**Tabelle 9.1**) und nach (**Tabelle 9.2**) Reinigung dieser Oberfläche. Mengenangaben in KBE/ cm².

Die Signifikanzanalyse in Tabelle 9.3 bzw. Grafik 8.2 zeigt einen p-Wert von 1,0, sodass die Nullhypothese beibehalten werden musste. Es konnte daher kein signifikanter Zusammenhang zwischen der Keimkonzentration und der desinfizierenden Flächenreinigung nachgewiesen werden.

Übersicht über Hypothesentest				
	Nullhypothese	Test	Sig.	Entscheidung
1	Die Verteilung von KBE pro cm ² ist über Kategorien von Zeitpunkt des Abstrichs gleich.	Mann-Whitney-U-Test unabhängiger Stichproben	1 ¹	Nullhypothese behalten.
Asymptotische Signifikanzen werden angezeigt. Das Signifikanzniveau ist ,05.				
¹ Für diesen Test wird die exakte Signifikanz angezeigt.				

Tabelle 9.3



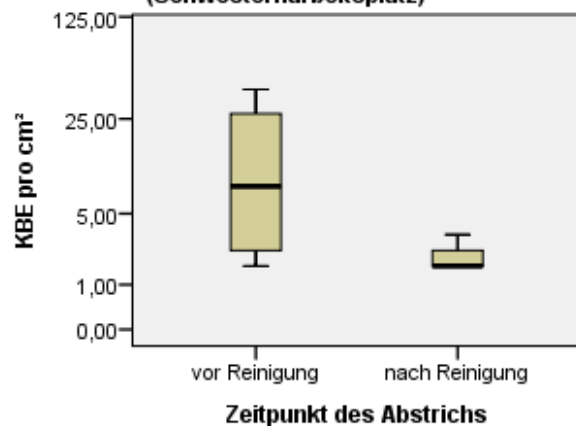
Grafik 8.2

Legende zu Tabelle 9.3 und Grafik 8.2: Signifikanzanalyse der Keimzahlmessung für die Oberfläche der Tastatur des Patientenbettplatzes der Station 2.

3.2.3.6 Station 2, PC-Maus am Schwesternarbeitsplatz

Aus den in Grafik 9.1 und den in den Tabellen 10.1 und 10.2 gezeigten Zahlen lässt sich schlussfolgern: Vor Reinigung wurden in den drei durchgeführten Abstrichuntersuchungen viermal unterschiedliche KnS nachgewiesen. Deren Konzentration schwankte zwischen 1,67 und 40,0 (im Mittel 15,8325) KBE/cm². Nach Reinigung wurden in den durchgeführten Abstrichen ebenfalls viermal unterschiedliche KnS detektiert. Die Konzentration schwankte hier zwischen 1,67 und 3,33 (im Mittel 2,085) KBE/cm².

Station 2, KNS-Konzentration in KBE/cm², PC-Maus (Schwesternarbeitsplatz)



Legende zu Grafik 9.1: Konzentration der Koagulase-negativen Staphylokokken (KnS) auf der PC-Maus des Schwesternarbeitsplatzes der Station 2 vor und nach Reinigung dieser Oberfläche. Mengenangaben in KBE/cm².

Grafik 9.1

Deskriptive Statistik

	N	Minimum	Maximum	Summe	Mittelwert	Standardabw.
KBE pro cm ²	4	1.67	40.00	63.33	15.8325	17.76883
Gültige Werte (Listenweise)	4					

Tabelle 10.1

Deskriptive Statistik

	N	Minimum	Maximum	Summe	Mittelwert	Standardabw.
KBE pro cm ²	4	1.67	3.33	8.34	2.0850	.83000
Gültige Werte (Listenweise)	4					

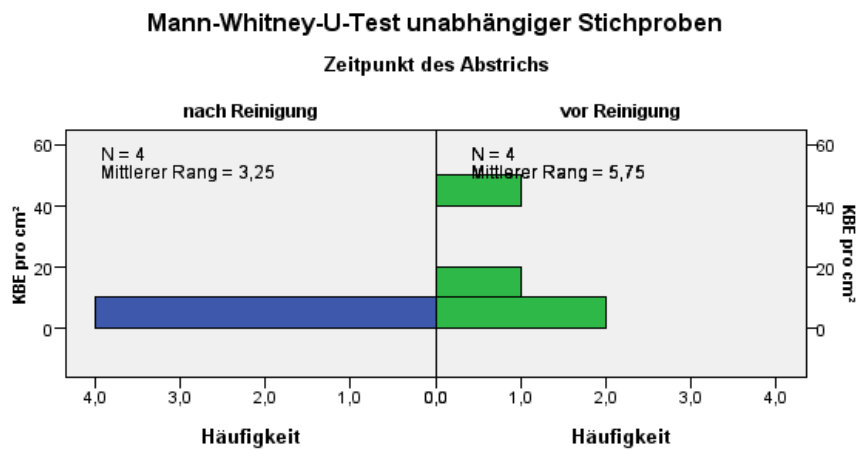
Tabelle 10.2

Legende zu Tabelle 10.1 und 10.2: Konzentration der Koagulase-negativen Staphylokokken (KnS) auf der PC-Maus des Schwesternarbeitsplatzes der Station 2 vor (**Tabelle 10.1**) und nach (**Tabelle 10.2**) Reinigung dieser Oberfläche. Mengenangaben in KBE/cm².

Die Signifikanzanalyse in Tabelle 10.3 und Grafik 9.2 zeigt einen p-Wert von 0,2, sodass die Nullhypothese beibehalten werden musste, da kein signifikanter Zusammenhang zwischen Keimkonzentration und desinfizierender Flächenreinigung bestand.

Übersicht über Hypothesentest				
	Nullhypothese	Test	Sig.	Entscheidung
1	Die Verteilung von KBE pro cm ² ist über Kategorien von Zeitpunkt des Abstrichs gleich.	Mann-Whitney-U-Test unabhängiger Stichproben	0,2 ¹	Nullhypothese behalten.
Asymptotische Signifikanz werden angezeigt. Das Signifikanzniveau ist ,05.				
¹ Für diesen Test wird die exakte Signifikanz angezeigt.				

Tabelle 10.3



Grafik 9.2

Legende zu Tabelle 10.3 und Grafik 9.2: Signifikanzanalyse der Keimzahlmessung für die Oberfläche der PC-Maus des Schwesternarbeitsplatzes der Station 2.

4 Diskussion

Diese Arbeit verfolgte zwei Ziele: *zum einen* sollte die Erregerlast auf Griffflächen von Intensivstationen der Rostocker Universitätsmedizin untersucht werden, d.h. von Einrichtungen, in denen die Anwesenheit von pathogenen Erregern zu dramatischen Konsequenzen für die dort behandelten Patienten führen kann. Dabei sind Griffflächen Zwischenablagen im Übertragungsweg von jeglichen Kontaktübertragungen, sprich sie werden durch das Berühren mit kontaminierten Händen selbst kontaminiert und kontaminieren nun wiederum Hände, die sie berühren. Die wichtigste Methode eine solche Übertragung zu verhindern, ist die Händedesinfektion nach dem Patientenkontakt und damit vor dem Kontakt mit Griffflächen sowie vor dem nächsten Patientenkontakt und damit nach dem Kontakt mit kontaminierten Griffflächen. Als zusätzliche Sicherung gegen Kontaktübertragungen werden Griffflächen in der Patientenumgebung regelhaft desinfizierend gereinigt. Dies soll generell die Keimlast senken und zudem den nächsten Patientenkontakt schützen, wenn nach dem Berühren der Griffflächen die Hände irrtümlich nicht desinfiziert wurden. Entsprechend sollte *zum anderen* die Wirkung und Nachhaltigkeit der desinfizierenden Reinigung von Griffflächen auf den Intensivstationen untersucht werden.

Dazu gibt es bereits eine Reihe von Untersuchungen in verschiedenen Hospitälern der Industrieländer. Für die Qualität dieser Untersuchungen ist die Präanalytik, sprich die Entscheidung über die zu untersuchenden Flächen sowie die Technik der Probennahme von entscheidender Bedeutung. Sprich, wenn die Probennahme an den falschen Stellen und/oder technisch suboptimal durchgeführt wird, kann keine noch so ausgefeilte Labortechnik diese eingangs gemachten Fehler wieder korrigieren. Deswegen wurde in dieser Studie besonderer Wert auf die Auswahl der zu untersuchenden Flächen und eine optimale Technik für die Probennahme gelegt. Zumindest der Punkt der Probennahmetechnik unterscheidet die aktuelle Arbeit von der Mehrzahl der Vorgängerstudien, die sich offenbar des Problems der Präanalytik nicht bewusst waren und eine optimale Qualität dieses Schrittes - sei es durch eigene Aktion oder als Auftrag an Dritte - kritiklos voraussetzten.

Im ersten Teil der Diskussion werden nun auf die Optimierung der Präanalytik sowie auf die Untersuchung der eigenen Testreliabilität bzw. -reproduzierbarkeit eingegangen und etwaige Schwachpunkte des Verfahrens selbstkritisch hinterfragt. Im zweiten Teil der Diskussion wird dann auf die eigentliche Zielsetzung dieser Arbeit, sprich Erregerlast vor Ort und Reinigungseffekte, fokussiert.

4.1 Vorversuche im Labor

4.1.1 Auswahl der Testkeime

In der vorliegenden Arbeit wurden für Vorversuche zur Etablierung und Validierung der Abstrich-Untersuchungstechnik Stämme von *S. epidermidis* und *S. aureus* der Stammsammlung des Variabors des Instituts für Medizinische Mikrobiologie, Virologie und Hygiene, Universitätsklinikum Rostock verwendet.

S. epidermidis, der ein Vertreter der sogenannten Koagulase-negativen Staphylokokken (KnS) und Teil der menschlichen Hautflora ist (Leyden et al., 1987), sollte im Rahmen der Vorversuche stellvertretend für alle KnS stehen. *S. aureus*, ebenfalls zur residenten Hautflora gehörend, sollte stellvertretend für potentiell gesundheitsgefährdendere Keime im Patientenumfeld stehen.

4.1.2 Zusammenfassung der Vor Versuchsergebnisse

Die später zu untersuchenden Griffflächen sollten mit einer Technik untersucht werden, die einfach, schnell erlernbar und zudem kostengünstig ist. Dafür bietet sich die Untersuchung mittels Abstrichen mit Stieltupfern an. Der Untersucher musste in einem ersten Schritt demonstrieren, dass er die Technik verlässlich beherrschte und mit ihr reproduzierbare Ergebnisse erbringen konnte. Deswegen erfolgte die Entscheidung, die mit definierten Keimmengen beimpften Testfelder mit einem Tupfer abzustreichen.

Im Rahmen dieser Vorversuche wurde deutlich, dass die Sensitivität des verwendeten Tupfertyps (Sarstedt Viskosetupfer, neutral, steril, ohne Transportmedium) je nach untersuchtem Keim (*S. epidermidis* oder *S. aureus*, oder eine Mischsuspension aus beiden Stämmen im Verhältnis 10:1) erheblich schwankte. 22 bis 44 Prozent der tatsächlich aufgetragenen *S.-epidermidis*-Keimmenge wurden mittels Tupferabstrich wiedergefunden, wobei die höchste Sensitivität vor allem bei kleinen Keimzahlen vorlag (vgl. Tabelle 2.4 im Kapitel 3.1.1). Zwischen 35 und 64 Prozent der aufgetragenen *S. aureus* wurden mit dem gleichen Tupfertyp wiedergefunden (Vgl. Tabelle 3.4 im Kapitel 3.1.2). Man könnte also anhand dieser Zahlen annehmen, dass der verwendete Tupfer *S. aureus* besser detektiert als *S. epidermidis* (vor allem bei niedrigen Keimkonzentrationen). Allerdings kehrte sich bei den Versuchen mit Mischsuspension das Sensitivitätsverhältnis um (Kapitel 3.1.3). In einer Mischsuspension beider Stämme schwankte die Sensitivität, mit welcher *S. epidermidis* wiedergefunden wurde zwischen 267 und 15 Prozent, wobei mit steigenden Keimmengen die Sensitivität abnahm. Hingegen wurden von *S. aureus* zwischen 0 und 26 Prozent der tatsächlich

aufgetragenen Kolonie-bildenden Einheiten (KBE) wiedergefunden. Um zu prüfen ob diese Schwankungen auf ein eventuelles Klumpungsverhalten zurückzuführen sei, wurden rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen von Reinkulturen der o.g. Stämme, wie auch einer Mischsuspension im o.g. Mischungsverhältnis angefertigt. Auf diesen Aufnahmen finden sich allerdings keine auffälligen Unterschiede im Klumpungsverhalten der beiden Bakterienstämme, welche solche Schwankungen erklären könnte.

4.1.3 Der Tupfer als Untersuchungsinstrument

Die Sensitivität hängt im entscheidenden Maße von der Art des Tupfers ab (Warnke et al., 2014 a). Allerdings gab es keine signifikanten Unterschiede, wenn mit dem jeweiligen Tupfertyp *S. aureus* oder *S. epidermidis* untersucht wurden. Der in der vorliegenden Arbeit untersuchte Tupfertyp schnitt in allen untersuchten Kategorien (Bakterienaufnahme, Bakterienabgabe, Flüssigkeitsaufnahme, Flüssigkeitsabgabe, etc.) im Vergleich mit den anderen untersuchten Tupfertypen relativ ungünstig ab. In einer weiteren Arbeit unterstrichen Warnke et al. die niedrige Sensitivität des verwendeten Tupfers an einem anatomisch korrekten Nasenmodell zur Optimierung des MRSA-Screening-Nasenabstriches, wobei die Sensitivität zwischen 0 und 47 Prozent je nach Art der Tupfereaufbereitung im Labor schwankte (Warnke et al., 2014 b). Allerdings waren diese Ergebnisse zu Beginn dieser Studie nicht antizipierbar und der hier verwendete Tupfertyp entsprach dem damaligen Standard der Universitätsmedizin Rostock.

Dass kommerzielle Abstrichtupfer (zumeist aus Baumwolle, Viskose, Polyester oder Calciumalginat) prinzipiell für die Untersuchung der Patientenumgebung geeignet sind (vor allem wenn sie vor dem Abstreichen der zu untersuchenden Fläche angefeuchtet werden) zeigten Landers und Kollegen (Landers et al., 2010). Carling und Bartley meinten dagegen, dass Abstrichtupfer als Oberflächenuntersuchungsmethode zur regelmäßigen Kontrolle der Reinigung von Griffflächen trotz einfacher Anwendung ungeeignet seien: die Autoren monierten die Laborprozessierungskosten (inklusive der Identifikation von Isolaten) nach dem eigentlichen Abstrich als zu hoch. Es lägen Verzögerungen bei der Ergebnisanalyse vor, es bestünde die Notwendigkeit Ausgangswerte zu erheben und die Durchführbarkeit, gleichzeitig mehrere Flächen im Rahmen eines Kontrollprogramms für z.B. verstärkte Reinigung zu untersuchen, sei eingeschränkt (Carling und Bartley, 2010).

Da es in dieser Arbeit um die Untersuchung von Griffflächen ging, konnten aufgrund der unebenen Flächen die sonst üblichen Abklatschplatten nicht verwendet werden. Ibfelt und Kollegen untersuchten so genannte Dip Slides (Eintauchobjektträger) als Alternative zu Abklatschplatten, um gerade schwer zugängliche Stellen untersuchen zu können, da diese sich aufgrund ihrer Form (ein

langseitiges Rechteck) und der Grifffläche an einer Seite besser über die zu untersuchende Oberfläche führen ließen. Tatsächlich waren diese den sogenannten Rodac-Platten bei der Detektion von KnS und Pseudomonaden unterlegen (Ibfelt et al., 2014). Aufgrund des beachtlichen Kostenunterschieds zwischen den neutralen Viskosetupfern und den Dip Slides wurde an den Tupfern als Untersuchungsinstrument festgehalten.

4.2 Feldversuche auf den untersuchten Intensivstationen

4.2.1 Aufarbeitung der gewonnenen Proben

Nachdem die ausgewählten Griffflächen mit jeweils einem zuvor angefeuchteten Tupfer abgestrichen worden waren, wurden die Abstrichtupfer in der sterilen Kochsalzlösung belassen, das Probengefäß verschlossen und die Proben schnellstmöglich (binnen zehn Minuten) ins Labor zur weiteren Aufarbeitung verbracht. Der Weg zum Labor lag teilweise unter freiem Himmel, die Proben wurden nicht gesondert gegen die herbstlichen Temperaturen zum Zeitpunkt der Feldversuche geschützt. Warnke et al. sehen in suboptimalen Transportbedingungen eine Ursache falsch-niedriger oder falsch-negativer Untersuchungsergebnisse. Gerade Tupfer mit niedrigen Keimaufnahmequoten seien von dieser potentiellen Fehlerquelle betroffen (Warnke et al., 2014 a). Allerdings lagen die kurze Transportzeit sowie die nicht extremen Umgebungsbedingungen während der Transporte innerhalb der Spanne der Rahmenbedingungen, die auch für die Untersuchung von Patientenmaterialien gelten, und hier sogar noch im eher günstigen Bereich. Insofern sind keine ernsthaften Einwände gegen die Güte der Untersuchungsergebnisse einzubringen.

Nach der in Kapitel 2.2.2 beschriebenen Aufbereitung des Tupfers, folgte die Auswertung der beimpften Agar-Platten nach Bebrütung zunächst nach makroskopischer Beschreibung der gewachsenen Kolonien (Farbe, Größe, Beschaffenheit), Katalase-Verhalten, KOH-Test, Oxidase-Schnelltest und der mikroskopischen Beurteilung im Gram-Präparat. Nur die Kolonien, die in den eben genannten Testverfahren den Eindruck erweckten, ein „Problemkeim“ zu sein, wurden nach Isolation massenspektrometrisch untersucht.

Diese etablierten, weitverbreiteten und kostengünstigen Methoden wurden bezüglich ihrer Sensitivität (gerade bei der Untersuchung biofilmbildender Keime) von Yun et al. als mittlerweile ungenügend eingestuft. So seien bei der Untersuchung der Proben mittels Polymerase-Kettenreaktion (PCR) beziehungsweise Massenspektrometrie (ESI-TOF-MS) in 99 Prozent Keime nachgewiesen worden (im Gegensatz zu 67 Prozent mit den oben genannten etablierten Methoden ($p < 0,01$)). Demnach seien auf untersuchten Tastaturen durch die neuen Methoden 30mal KnS (vs. 16mal), auf

PC-Mäusen 22mal KnS (vs. 9mal) und auf dem untersuchten Perfusor 23mal KnS (vs. 9mal) detektiert worden. Insgesamt wurden demnach in 94 Proben mit den alten Methoden 86mal KnS, mittels PCR und ESI-TOF-MS hingegen 214mal KnS gefunden (Yun et al., 2012).

Aufgrund der Art des benutzten Tupfers und der Labormethoden für die Keimdetektion kann eine eher geringe Nachweissensitivität nicht ausgeschlossen werden. Trotzdem lassen sich die gewonnenen Werte untereinander vergleichen, da für alle Proben die gleichen Bedingungen vorlagen. Insofern mögen die Absolutwerte der Keimdetektion und –quantifizierung diskutabel sein, das Verhältnis der einzelnen Proben zueinander kann aber als repräsentativ angesehen werden.

4.2.2 KnS als der Teil der Hautflora

Es wurde darauf verzichtet, alle als „KnS“ detektierten Keime massenspektrometrisch genauer zu spezifizieren. Eine genaue Aussage über ein Überwiegen von nur einer oder weniger Spezies auf bestimmten Griffflächen ist somit nicht möglich. Die Begründung dafür ist, dass die unter dem Sammelbegriff KnS subsummierten Spezies zur physiologischen Hautflora gehören und eine bedeutende Rolle bei der Aufrechterhaltung der Schutzfunktion der gesunden Haut spielen (Otto, 2012). Alle KnS-Arten sind nach dem Stand des gegenwärtigen Wissens auf der intakten Haut von Immun-gesunden oder wenig alterierten Menschen nicht pathogen (Ehsan et al., 2013), sodass es keinen so begründeten Anlass für einen höheren Untersuchungsaufwand gab.

Allerdings kann sich die Zusammensetzung der Hautflora (gerade jener des im Patientenumfeld tätigen Personals) unter bestimmten Umständen ändern. So haben Larson et al. 1998 festgestellt, dass bei Pflegepersonal mit Hautirritationen/ -verletzungen zwar die gleiche Gesamtzahl an Keimen auf der Haut residieren, insgesamt aber mehr Spezies als auf gesunder Haut vertreten seien. Zudem nehme auf verletzter Haut die Besiedlung mit *S. hominis* zu. Zudem zeigte *S. hominis* bei Hautirritationen eine erhöhte Methicillin-Resistenz. Insgesamt machten KnS 76 Prozent der menschlichen Hautflora aus (Larson et al., 1998). Gerade bei Pflegepersonal finden sich wesentlich häufiger Methicillin- und Ciprofloxacin-resistente KnS in Kulturen von Handabstrichuntersuchungen, wohingegen nicht-medizinisches Personal Keime mit wesentlich weniger Resistenzdeterminanten in der Hautflora aufwies ($p < 0,001$). Das Personal agiere bei mangelnden Vorsichtsmaßnahmen sozusagen als Carrier resistenter Keime (Lee et al., 1994). In der vorliegenden Arbeit wurden die meisten gefundenen KnS keiner weitergehenden Resistenztestung zugeführt, sodass kein Vergleich zu der zitierten Publikation möglich ist.

Naheliegenderweise unterscheidet sich die Hautflora von Mitarbeitern verschiedener Abteilungen einer Gesundheitseinrichtung mindestens ebenso stark wie die von Mitarbeitern einer Abteilung (Horn et al., 1988). Qualitativ und quantitativ waren auch bei den hier vorliegenden Untersuchungen Unterschiede zwischen den beiden Intensivstationen zu sehen (vgl. Grafik 3.1-3.4). So überwogen mit jeweils über 80 Prozent die KnS auf den Händen der Mitarbeiter und den Griffflächen. Auf den Händen der Mitarbeiter beider Stationen fanden sich Enterokokken, welche sich ebenfalls zahlenmäßig zwischen den beiden Stationen unterschieden.

Auch die unterschiedlichen Hautregionen des Körpers einzelner Versuchspersonen weisen eine unterschiedliche Flora auf. Während in trockenen Hautregionen (Hände und Extremitäten) eher mit aeroben Kokken (*S. epidermidis*, *S. aureus*, oder Mikrokokken) zu rechnen ist, finden sich in feuchten Hautregionen (Kopf, Axilla, Leistenregion) vorwiegend diptheroide Keime wie *Corynebacterium* oder *Brevibacterium*. Durch häufiges Handschuhtragen kann sich die residente Flora trockener Haut zu der Flora feuchter Haut umwandeln (Biddle, 2009). Zudem steigt, je länger mit behandschuhten Händen gearbeitet wird, die Absolutkeimzahl auf den Händen (Pittet et al., 1999). Aus diesem Fakt lassen sich die teilweise hohen Keimkonzentrationen auf einzelnen Griffflächen erklären: Wenn zum Beispiel die Arbeit am Patienten kurzfristig unterbrochen wird und die Handschuhe ausgezogen werden (um beispielsweise etwas im Bettplatz-Computer zu dokumentieren), ohne sich zwischendurch die Hände desinfiziert zu haben.

Gerade auf Intensivstationen sind Patienten aufgrund ihres kompromittierten Immunsystems gefährdet, wenn durch äußere Umstände normale Hautkeime (wie *S. epidermidis*) zu Krankheitserregern werden (Cogen et al., 2008). 2014 haben Najar-Peerayeh und Kollegen gezeigt, dass der auf der menschlichen Haut weitverbreitete *S. epidermidis* sehr häufig Träger von ausgeprägten Antibiotikaresistenzen ist. So konnten sie in 92,2 % der untersuchten *S. epidermidis*-Stämme das *mecA*-Gen nachweisen, welches für die prinzipiell zwischen allen Staphylokokkenarten, also auch auf *S. aureus*, übertragbare Methicillin-Resistenz kodiert (Najar-Peerayeh et al., 2014). Auch aus diesem Grund sollte die Keimbelastung auf Griffflächen (auch wenn es vordergründig „nur Hautflora“ ist) so gering, wie möglich gehalten werden.

4.2.3 Ergebnisse der Felduntersuchungen

Im Ergebnisteil dieser Arbeit wurde deutlich, dass es auf den untersuchten Intensivstationen (ITS) Griffflächen gibt, die aufgrund von möglicherweise mangelnder regelmäßiger Reinigung erhöhte Keimbelastungen (insbesondere mit Hautflora) aufweisen. Dass die Umgebungsdesinfektion die

Übertragung mikrobieller Pathogene unterbricht und dadurch eine Verbesserung der öffentlichen Gesundheit erreicht wird, haben bereits Cozad und Jones deutlich gemacht (Cozad und Jones, 2003).

Es fielen im Rahmen der vorliegenden Arbeit vor allem die Keimzahlen auf den untersuchten Griffflächen der Arztzimmer auf. Sowohl auf der internistischen (Station 1), wie auch auf der anästhesiologischen (Station 2) Intensivstation (ITS) waren vor allem auf der Computermouse, beziehungsweise der Tastatur des Arztzimmers deutlich mehr Bakterien nachweisbar als zum Beispiel auf dem Türgriff des jeweils auf den Stationen untersuchten Isolationszimmers (in allen Abstrichproben keine Keime nachweisbar). Auch die PC-Mouse am Schwesternarbeitsplatz der Station 2 zeigte vergleichsweise hohe Keimzahlen (vgl. Grafik 3.5-3.8). Diese Griffflächen, die ausschließlich vom ärztlichen beziehungsweise pflegerischen Personal genutzt werden und die sich nicht im direkten Umfeld der Patienten befinden, werden nicht planmäßig durch die beauftragten Reinigungskräfte erfasst und gereinigt. Dabei konnten Cookson und Kollegen bereits 1997 darlegen, dass häufig durch Hände berührte Oberflächen häufiger gereinigt, beziehungsweise desinfiziert werden müssen (Cookson et al., 1997).

Laut Reinigungsplan der untersuchten Intensivstationen wird ein Großteil der Griffflächen (Türgriffe, Bettgiebel, Ablageflächen in Patientennähe, Perfusoren, Infusomaten) zweimal täglich durch eine gesondert eingearbeitete Reinigungskraft mit einer desinfizierenden Lösung gereinigt. Zudem erfolgen bei Bedarf zusätzliche Wischdesinfektionen durch das jeweils tätige Pflegepersonal (besonders vor und nach pflegerischen Maßnahmen). Dancer und Kollegen schlugen 2009 gestaffelte Reinigungsintervalle für unterschiedliche Griffflächen vor. Demnach sollten gerade die patientennahen Flächen (Bettisch, Notklingel) 2-3mal täglich gereinigt werden. Für Patienten-entferntere Flächen (z.B. Arbeitsbereich der Schwestern, Tastaturen, Schreibtischoberfläche) sei eine Frequenz von 1-2 täglichen Reinigungen optimal. Medizinische Geräte in Patientennähe (Infusomaten, Blutdruckmanschetten) sollten ebenfalls 1-2mal täglich gereinigt werden, da eine verstärkte/ häufigere Reinigung die Zahl aerober Keime signifikant senke ($p < 0,0001$) und häufigere Reinigungen allgemein das Risiko von Reinigungsmängeln reduzieren (Dancer et al., 2009). Diese Empfehlungen decken sich mit der gelebten Praxis auf den Stationen. Lediglich die Schreibtische der Ärzte mit den darauf befindlichen Tastaturen, Telefonen und PC-Mäusen werden nicht durch das bisherige Reinigungsregime erfasst.

4.2.3 Quantitative Keimbelastung auf patientennahen Griffflächen

„Das absolute Ziel von Umgebungsreinigung und –desinfektion sollte sein, die Zahl pathogener Mikroorganismen auf ein ausreichend niedriges Niveau zu senken, um Übertragungen vorzubeugen.“ (Sitzlar et al., 2013, S. 463)

Weber, Anderson und Rutala stellten 2013 fest, dass die Übertragung pathogener Keime von einem Patienten auf einen anderen über die Hände des medizinischen Personals, sowie kontaminierte Flächen oder Medizingeräte geschieht. Außerdem stellten die Autoren fest, dass Krankenhausflächen im Mittel mit weniger als 10 KBE pro Quadratzentimeter kontaminiert seien (Weber et al., 2013). In der vorliegenden Arbeit wurden im Schnitt auf den untersuchten Griffflächen zwischen 0,5 und 5 KBE/cm² gefunden. Damit entsprachen die nachgewiesenen Keimzahlen in der Universitätsmedizin Rostock denen der vorangegangenen Publikationen, bzw. waren sogar noch günstiger. Weber und Kollegen verwiesen in Ihrer Arbeit zum Vergleich auf Ergebnisse von Huslage und Mitarbeitern (Huslage et al., 2013), bzw. Boyce und Kollegen, welche Griffflächen mit Rodac-Abklatschplatten untersuchten und weniger als 100 KBE pro Platte detektierten (Boyce et al., 2011), was bei einer untersuchten Fläche von 25 cm² (pro Platte) einer Keimdichte von ungefähr 4 KBE pro 1 cm² entspräche. Dieser Wert liegt den ermittelten Werten in der vorliegenden Arbeit recht nah.

Es muss allerdings auf die großen Schwankungen der gemessenen Keimzahlen (nicht nur zwischen den unterschiedlichen Griffflächen, sondern auch einer Grifffläche zwischen den einzelnen Untersuchungszeitpunkten) verwiesen werden. Als Grund dieser Schwankungen kann sicherlich der Zeitpunkt der letzten Berührung der jeweiligen Fläche und die Absolutkeimzahl auf der berührenden Hand gezählt werden. Diese Vermutung lässt sich mit den Ergebnissen von Wilson et al. in Einklang bringen, denn der Keimtransfer scheint nicht nur von der Hand auf die Grifffläche, sondern auch entgegengesetzt quantitativ relevant zu sein. So konnte nachgewiesen werden, dass eine verstärkte Reinigung patientennaher Oberflächen die Gesamtbakterienzahl auf den Händen des Pflegepersonals reduziert (Wilson et al., 2011).

4.2.4 Computertastaturen als Vektor für die Keimverteilung im patientennahen Umfeld

In der vorliegenden Arbeit weisen die Computertastaturen einen nicht unwesentlichen Anteil der stets kontaminierten Flächen auf (vgl. Grafik 3.5-3.8). Im Jahr 2000 verglichen Bures und Mitarbeiter die Keimbelastung auf Computertastaturen und Wasserhähnen. Sie kamen zu dem Ergebnis, dass die Tastaturen wesentlich häufiger und länger als die Wasserhähne berührt wurden und dementsprechend auch mehr Keime auf den Tastaturen zu finden waren. Außerdem wurde auf die (damals noch zukünftige, heute reale) weite Verbreitung von PC-Tastaturen hingewiesen und dass diese einen potentiellen Vektor nosokomialer Keime darstellen (Bures et al., 2000). Als Reaktion auf diese Erkenntnisse wurden abwaschbare bzw. desinfizierbare Tastaturen entwickelt und untersucht (Wilson et al., 2008). Diese abwaschbaren, bzw. desinfizierbaren Tastaturen, sowie entsprechend zu reinigende PC-Mäuse finden sich auf der untersuchten Station 1 an allen Bettplätzen. Die vergleichsweise

geringen Keimbelastungen dieser Flächen legen den Schluss nahe, dass eine zur Reinigung geeignete Oberfläche auch zur regelmäßigen Reinigung derselben beiträgt. Außerdem werden gerade an den Bettplatzcomputern Eingaben mit oft noch vom Händedesinfektionsmittel benetzten Händen getätigt, sodass diese Flächen „automatisch“ mit desinfiziert werden.

Allerdings widersprechen gerade die am Bettplatz-PC erhobenen Zahlen auf der Station 2 vor und nach Reinigung dieser Hypothese (vgl. Grafik 3.5 – 3.8). Wie bereits oben erwähnt spielt bei der Auswertung der vorliegenden Ergebnisse ein Faktor eine große Rolle: Es ist davon auszugehen, dass, gerade wenn man sich soeben die Handschuhe ausgezogen und die Hände noch nicht desinfiziert hat, die Handflächen aufgrund des feuchtwarmen Milieus in den Handschuhen besonders stark mit Keimen versehen sind (Pittet et al., 1999). Umso wichtiger erscheint hier der in der Hygieneordnung niedergeschriebene Hinweis auf sofortige Händedesinfektion nach dem Ausziehen der Einmalhandschuhe, um eine sich wiederholende Kontaminierung möglichst verhindern zu können (Universitätsmedizin Rostock, 2014).

In der Arbeit von Wilson und Kollegen konnte nachgewiesen werden, dass die Investition in entsprechend leicht zu reinigende/ zu desinfizierende Eingabegeräte (Tastaturen/ PC-Mäuse) insgesamt die Kosten verringern, da es weniger Unkosten durch multiresistente Keime gebe. Außerdem konnte in deren Studie die Einführung eines integrierten Erinnerungssystems die Reinigungsfrequenz deutlich erhöhen und die durchschnittliche Keimbelastung verringern (Wilson et al., 2008).

4.3 Verbesserungspotential im Bereich der angewandten Hygiene

Die durch den Autor dieser Arbeit erhobenen Keimzahlen sind durchaus mit den in anderen Arbeiten erhobenen Werten annähernd vergleichbar. Trotzdem sind alle Maßnahmen, die die Keimbelastung auf den patientennahen Flächen reduzieren, erstrebenswert. Dabei sollten Griffflächen regelmäßig und zusätzlich bei sichtlicher Verschmutzung gereinigt werden. Dies führt zum einen zu einer ästhetischeren Umgebung des Patienten, zum anderen verringert es die Wahrscheinlichkeit, dass potentiell kontaminierte Objekte als Quelle für Erreger nosokomialer Infektionen dienen können (Rutala & Weber, 2001). Carling et al. konnten in drei Krankenhäusern eine signifikante Verbesserung der Reinigungsgründlichkeit ($p < 0,01$) erzielen, nachdem das Reinigungspersonal geschult wurde, wobei die größten Verbesserungen auf den zuvor am wenigsten gründlich gereinigten Flächen erzielt wurden (Carling et al., 2006). Da sich auf den Griffflächen eines Patientenzimmers die (pathogenen) Keime des im Zimmer untergebrachten Patienten nachweisen lassen, sind Maßnahmen wie

Fortbildung des Reinigungspersonals und die Verwendung desinfizierender Reinigungsmittel unerlässlich, da sie zu einer geringeren Keimlast führen können (Eckstein et al., 2007). Noch im Jahr 2014 mussten Chemaly und Kollegen feststellen, dass die Reinigungspraxis gerade für mobile Geräte uneinheitlich ist. Oftmals herrsche Unsicherheit zwischen dem Reinigungs- und dem Pflegepersonal bezüglich Aufgabenverteilung, Reinigungsfrequenz und Reinigungsmethoden (Chemaly et al., 2014). Auch wenn die verstärkte Flächendesinfektion nicht signifikant die jeweilige Keimbelastung von temporär getragenen Kitteln und Handschuhen reduziert (Hess et al., 2013).

In den letzten Jahren verbreitete sich zunehmend der Gedanke mit veränderten Oberflächenstrukturen/ -materialien eine Verringerung der Keimzahl zu erreichen. Zum Beispiel konnten Karpanen et al. zeigen, dass man mit einer Oberflächenbeschichtung aus Kupfer die Bakterienzahlen signifikant verringern kann (Karpanen et al., 2012).

Da es einigen Kostenaufwand bedeutet, ganze Abteilungen mit Kupferoberflächen auszustatten, gehen die Überlegungen neuerdings dahin, nicht nur Reinigungsmaßnahmen gehäuft, gut organisiert und kontrolliert durchzuführen, sondern auch langanhaltende Desinfektionsmittel auf die betreffenden Oberflächen aufzutragen. So wiesen Tamini und Kollegen nach, dass eine neue Substanz (auf der Basis von quartären Ammoniumverbindungen) nach dem Aufsprühen auf Griffflächen trotz der üblichen regelmäßigen Reinigungsmaßnahmen auch nach Monaten noch die absolute Zahl pathogener Keime im Sinne einer Selbstdesinfektion reduzieren konnte (Tamini et al., 2014). Allerdings ging aus dieser Studie nicht hervor, ob auch die Zahl nosokomialer Infektionen im Untersuchungszeitraum abgenommen hat. Kostenargumente müssen jedoch immer vor dem Hintergrund der Ersparnisse durch Verhinderung nosokomialer Infektionen betrachtet werden (Chemaly et al., 2014). Zudem besteht die Möglichkeit, dass langwirkende Desinfektionsmittel ungünstige Auswirkungen auf die exponierten Menschen haben. Deswegen müssen etwaige toxikologische Konsequenzen von solchen Antiseptika für medizinisches Personal arbeitsmedizinisch geprüft werden, bevor über eine umfangreiche Anwendung entschieden werden kann.

In der vorliegenden Arbeit fallen Flächen auf, die nach der Reinigung deutlich höheren Keimzahlen als vor Reinigung auf (vgl. Kapitel 3.2.3.2, Kapitel 3.2.3.4 und Kapitel 3.2.3.5). Die meisten Keime wurden auf Flächen gefunden, die nicht regelmäßig durch die Reinigungskräfte gereinigt werden (Telefon, Tastatur, PC-Maus im Arztzimmer). Um hier eine Verbesserung der hygienischen Situation zu etablieren, sollten die betroffenen Flächen in den Reinigungsplan aufgenommen und über die regelmäßige Anwendung eines indirekten Messinstruments zur Überprüfung der Flächenreinigung nachgedacht werden. Po und Kollegen haben entsprechende Untersuchungen auf den Tastaturen und PC-Mäusen mobiler Stations-Computer (auf Rädern), wie sie vermehrt für Visiten verwendet werden, durchgeführt. Dabei wurden die zu untersuchenden Flächen mit einem fluoreszierenden Marker

versehen. „Die regelmäßige Anwendung eines indirekten Messinstruments zur Überprüfung der Flächenreinigung kann es Institutionen erlauben die quantitative Reinigung von Tastaturen und anderen häufig genutzten Griffflächen auf Intensivstationen oder in anderen Bereichen des Gesundheitswesens nachzuvollziehen“ (Po et al., 2009).

Bezeichnenderweise überleben die häufigsten Erreger von Krankenhausinfektionen z.T. monatelang auf unbelebten Oberflächen. Je länger ein Keim auf einer Oberfläche überlebt, desto länger weist er ein Gefahrenpotential auf. *S.aureus* kann z.B. zwischen sieben Tagen und sieben Monaten überleben. Dabei steigt die Überlebenszeit des Keims mit seiner Ausgangsmenge auf der betreffenden Fläche (Kramer et al., 2006). Alle die vorgenannten Gründe sprechen für die regelmäßige, gründliche desinfizierende Reinigung von Griffflächen.

Die zum Teil immer noch suboptimale Compliance (vor allem beim ärztlichen Personal) bezüglich der Händehygiene kann, wie bereits 2000 durch Pittet und Kollegen gezeigt, durch die permanente Verfügbarkeit von Händedesinfektionsmitteln (in der Kitteltasche, an jedem Patientenbett) wesentlich verbessert werden, wobei rückblickend betrachtet bereits die Einführung alkoholischer Desinfektionsmittel im Gegensatz zu den vormals verwendeten desinfizierenden Seifen/ Handwaschungen eine deutliche Zunahme der Compliance bewirkt hatte (Pittet et al., 2000). Eine Verbesserung des Personalschlüssels würde hingegen nicht zwingend die Compliance zur Händedesinfektion verbessern (Eckmanns et al., 2001).

5 Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit sollte sowohl die Keimlast auf patientennahen Flächen zweier Intensivstationen als auch der nachhaltige Effekt einer desinfizierenden Reinigung dieser Flächen untersucht werden. Besonderer Wert wurde in dieser experimentellen Studie auf die Optimierung der Präanalytik gelegt, umso möglichst genaue und reproduzierbare Ergebnisse zu erhalten. Deswegen wurde nach Herstellung von Suspensionen Haut-typischer Keime eine präparierte Arbeitsfläche mit definierten Keimmengen beimpft und diese mittels Tupfer abgestrichen. Dabei konnte nachgewiesen werden, dass sich annähernd die erwartete Keimzahl in der Suspension und danach auf der präparierten Fläche befand. Es konnte ferner festgestellt werden, dass die Sensitivität des verwendeten Tupfertyps von verschiedenen Faktoren beeinflusst wird. So wurden wesentliche Sensitivitätsunterschiede zwischen dem Abstreichen einer Reinsuspension mit *S. epidermidis* bzw. *S. aureus* versus einer Mischsuspension aus beiden Keimarten gesehen. Außerdem spielte die Ausgangskeimlast der jeweiligen abgestrichenen Testfläche eine Rolle für die Genauigkeit der Abstrichuntersuchung. Entsprechende Schwankungen bei der Reproduzierbarkeit der Vorversuchsergebnisse lassen sich mit dem Umstand, dass mit lebenden Organismen gearbeitet wurde, erklären.

Mithilfe der ausführlichen Vorversuche wurde ein valides technisches Vorgehen bei der Durchführung der Feldversuche sichergestellt. Unter Nutzung des gleichen Abstrichtupfertyps und nach ausführlicher Planung wurden entsprechende patientennahe Griffflächen auf zwei Intensivstationen der Universitätsmedizin Rostock untersucht. Wie zu erwarten, dominierten Koagulase-negative Staphylokokken als Hauptvertreter der physiologischen menschlichen Hautflora das Spektrum detektierter Keime. Die absolute Keimlast pro cm² untersuchter Grifffläche deckte sich dabei im Wesentlichen mit den Ergebnissen anderer Arbeiten (in welchen für die Ermittlung der Bakterienquantität nicht Abstrich- sondern Abklatschuntersuchungen favorisiert wurden). Allerdings sind letztere für die Untersuchung von Flächen mit unebenem Oberflächenprofil (Tastaturen, PC-Mäuse, Telefone) ungünstig, während sich Tupfer als Untersuchungsinstrumente diesen Unebenheiten deutlich besser anpassen und damit geringe Mengen einzelner Keimarten eher erfasst werden.

Es konnte zudem gezeigt werden, dass die desinfizierende Reinigung keinen signifikanten Effekt auf die Keimlast der untersuchten Flächen hat, was sicher auch durch die eher vorteilhafte weil gering belastete Ausgangssituation vor solchen Reinigungsleistungen bedingt war. Eine weitere Erklärung folgt aus der Tatsache, dass die untersuchten Griffflächen unabhängig von den Reinigungszyklen ständig durch die Hände des Personals, respektive der Besucher der entsprechenden Bereiche, erneut „kontaminiert“ werden. Dieser Fakt unterstreicht erneut die Wichtigkeit ordnungsgemäßer

Händedesinfektion, um das Risiko der Hände als Keimträger und Keimverteiler möglichst minimieren zu können.

Außerdem zeigten die Untersuchungen dieser Arbeit nur wenige Schwachstellen in der täglichen desinfizierenden Reinigung (hier vor allem die Arbeitsplätze im Arztzimmer) auf. Hier sollten abwischbare Tatstaturen und PC-Mäuse eingeführt und diese in das tägliche Reinigungsregime aufgenommen werden, wie es für die sogenannten Bettplatz-Computer in unmittelbarer Patientennähe bereits üblich ist.

Dass die bisher etablierten Standards in Hygiene und Reinigung bereits auf einem hohen Niveau sind, beweist der Umstand, dass auf keiner der untersuchten Griffflächen sogenannte „Problemkeime“ (also Bakterien mit multiplen Antibiotikaresistenzen und damit einem hohen Gefährdungspotential für die zumeist multipel kompromittierten, auf Intensivstationen liegenden Patienten) gefunden wurden.

Die Ergebnisse dieser Arbeit bestätigen zugleich, dass die Flächenhygiene in der Universitätsmedizin Rostock zwar keinesfalls vernachlässigt werden darf, in aller Regel jedoch gegenüber der Händehygiene einen geringeren Beitrag zur Prävention nosokomialer Infektionen leistet.

6 Literatur

1. **Becker K, Heilmann C, Peters G.** Coagulase-Negative Staphylococci. *Clinical Microbiology Reviews*, 2014;27:870-926
2. **Biddle C.** Semmelweis revisited: hand hygiene and nosocomial disease transmission in the anesthesia workstation. *AANA Journal*, 2009;77:229-37
3. **Boyce JM, Havill NL, Havill HL, Mangione E, Dumigan DG, Moore BA.** Comparison of fluorescent marker systems with 2 quantitative methods of assessing terminal cleaning practices. *Infection Control and Hospital Epidemiology*, 2011;32:1187-93
4. **Boyce JM.** Modern technologies for improving cleaning and disinfection of environmental surfaces in hospitals. *Antimicrobial Resistance and Infection Control*, 2016;5:10
5. **Bures S, Fishbain JT, Uyehara CFT, Parker JM, Berg BW.** Computer keyboards and faucet handles as reservoirs of nosocomial pathogens in the intensive care unit. *American Journal of Infection Control*, 2000;28:465-471
6. **Carling PC, Bartley JM.** Evaluating hygienic cleaning in health care settings: what you do not know can harm your patients. *American Journal of Infection control*, 2010;38 (5 Supplement 1):S41-50
7. **Carling PC, Briggs JL, Perkins J, Highlander D.** Improved cleaning of patient rooms using a new targeting method. *Clinical Infectious Diseases*, 2006;42:385-8
8. **Chemaly RF, Simmons S, Dale C, Ghantaji SS, Rodriguez M, Gubb J, Stachowiak J, Stibich M.** The role of the healthcare environment in the spread of multidrug-resistant organisms: update on current best practices for containment. *Therapeutic Advances in Infectious Disease*, 2014;2:79-90
9. **Christiansen B, Dettenkofer M, Becker EM, Eikmann T, Exner M, Heeg P, Kramer A, Ruf B, Schwebke I.** Anforderungen an die Hygiene bei der Reinigung und Desinfektion von Flächen. *Bundesgesundheitsblatt-Gesundheitsforschung-Gesundheitsschutz*, 2004;47:51–61
10. **Cogen AL, Nizet V, Gallo RL.** Skin microbiota: a source of disease or defence? *British Journal of Dermatology*, 2008;158:442-55

11. **Conrad C.** Krankenhaushygiene damals und heute – was hat sich geändert? *Hygiene und Medizin*, 2004;29:204-5
12. **Cookson ST, Hughes JM, Jarvis WR.** Nosocomial gastrointestinal infections. In *Wenzel RP, ed. Prevention and control of nosocomial infections. Baltimore (MD): Williams & Wilkins, 1997*
13. **Cozad A, Jones RD.** Disinfection and the prevention of infectious disease. *American Journal of Infection Control*, 2003;31:243-54
14. **Dancer DJ, White LF, Laamb J, Girvan EK, Robertson C.** Measuring the effect of enhanced cleanig in a UK hospital: a prospective cross-over study. *BMC Medicine*, 2009;7:28
15. **Eckmanns T, Rath A, Bräuer H, Daschner F, Rüden H, Gastmeier P.** Compliance der Händedesinfektion auf Intensivstationen. *Deutsche Medizinische Wochenschrift*, 2001;126:745-49
16. **Eckstein BC, Adams DA, Eckstein EC, Rao A, Sethi AK, Yadavalli GK, Donskey CJ.** Reduction of *Clostridium difficile* and vancomycin-resistant *Enterococcus* contamination of environmental surfaces after an intervention to improve cleaning methods. *BMC Infectious Diseases*, 2007;7:61
17. **Ehsan MM, Memon Z, Ismail MO, Fatima G.** Identification and antibiotic susceptibility pattern of coagulase-negative staphylococci in various clinical specimens. *Pakistan Journal of Medical Sciences*, 2013;29:1420-24
18. **Ellis H.** Florence Nightingale: creator of modern nursing and public health pioneer. *Journal of Perioperative Practice*, 2008;18:404-6
19. **Evans CA, Smith WM, Johnston EA, Giblett ER.** Bacterial flora of the normal human skin. *The journal of investigative dermatology*, 1950;15:305-24
20. **Exner M, Hartemann P.** Florence Nightingale und Krankenhaushygiene. *Hygiene und Medizin*, 2004;29:201-3
21. **Fraenkel A.** R. Koch, Ueber Tuberculose. *Deutsche medizinische Wochenschrift*, 1882;8:210-211
22. **Friedman ND, Walton AL, Boyd S, Tremonti C, Low J, Styles K, Harris O, Alfredson D, Athan E.** The effectiveness of a single-stage versus traditional three-staged protocol of hospital

- disinfection at eradicating vancomycin-resistant Enterococci from frequently touched surfaces. *American Journal of Infection Control*, 2013;41:227–231
23. **Gebel J, Exner M, French G, Chartier Y, Christiansen B, Gemein S, Goroncy-Bermes P, Hartemann P, Heudorf U, Kramer A, Maillard JY, Oltmanns P, Rotter M, Sonntag HG.** The role of surface disinfection in infection prevention. *GMS Hygiene and Infection Control*, 2013;8:Doc10.
24. **Han JH, Sullivan N, Leas BF, Pegues DA, Kaczmarek JL, Umscheid CA.** Cleaning Hospital Room Surfaces to Prevent Health Care–Associated Infections: A Technical Brief. *Annals of Internal Medicine*, 2015;163:598-607
25. **Hess AS, Shardell M, Johnson JK, Thom KA, Roghmann MC, Netzer G, Amr S, Morgan DJ, Harris AD.** A randomized, controlled trial of enhanced cleaning to reduce contamination of healthcare worker gowns and gloves with multidrug-resistant bacteria. *Infection Control and Hospital Epidemiology*, 2013;34:487-93
26. **Horn WA, Larson EL, McGinley KJ, Leyden JJ.** Microbial flora on the hands of health care personnel: differences in composition and antibacterial resistance. *Infection Control and Hospital Epidemiology*, 1988;9:189-93
27. **Huslage K, Rutala WA, Gergen MF, Sickbert-Bennett EE, Weber DJ.** Microbial assessment of high-, medium-, and low-touch hospital room surfaces. *Infection Control and Hospital Epidemiology*, 2013;34:211-212
28. **Ibfelt T, Foged C, Andersen LP.** Validation of dipslides as a tool for environmental sampling in a real-life hospital setting. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 2014;33:809-13
29. **Karpanen TJ, Casey AL, Lambert PA, Cookson BD, Nightingale P, Miruszenko L, Elliot TS.** The antimicrobial efficacy of copper alloy furnishing in the clinical environment: a crossover study. *Infection Control and Hospital Epidemiology*, 2012;33:3-9
30. **Kramer A, Schwebke I, Kampf G.** How long do nosocomial pathogens persist on inanimate surfaces? A systemic review. *BMC Infectious Diseases*, 2006;16:130-138
31. **Landers TF, Hoet A, Wittum TE.** Swab type, moistening, and preenrichment for *Staphylococcus aureus* on environmental surfaces. *Journal of Clinical Microbiology*, 2010;48:2235-6

32. **Larson EL, Norton Hughes CA, Pyrek JD, Sparks SM, Cagatay EU, Bartkus JM.** Changes in bacterial flora associated with skin damage on hands of health care personnel. *American Journal for Infection Control*, 1998;26:513-21
33. **Lee YL, Cesario T, Lee R, Nothvogel S, Nassar J, Farsad N, Thrupp L.** Colonization by staphylococcus species resistant to methicillin or quinolone on hands of medical personnel in a skilled-nursing facility. *American Journal for Infection Control*, 1994;22:346-51
34. **Leyden JJ, McGinley KJ, Nordstrom KM, Webster GF.** Skin microflora. *Journal of Investigative Dermatology*, 1987;88:S65-S72
35. **Marchetti MG, Kampf G, Finzi G, Salvatorelli G.** Evaluation of the bactericidal effect of five products for surgical hand disinfection according to prEN 12054 and prEN 12791. *Journal of Hospital Infection*, 2000;54:63-67
36. **Najar-Peerayeh S, Jazayeri Moghadas A, Behmanesh M.** Antibiotic susceptibility and *mecA* frequency in *Staphylococcus epidermidis*, isolated from intensive care unit patients. *Jundishapur Journal of Microbiology*, 2014;7:e11188
37. **Otto M.** Molecular basis of *Staphylococcus epidermidis* infections. *Seminars in Immunopathology* 2012;34:201-14
38. **Pittet D, Dharan S, Touveneau S, Sauvan V, Perneger TV.** Bacterial contamination of the hands of hospital staff during routine patient care. *Archives of Internal Medicine*, 1999;159:821-6
39. **Pittet D, Hugonnet S, Harbarth S, Mourouga P, Sauvan V, Touveneau S, Perneger TV.** Effectiveness of a hospital-wide program to improve compliance with hand hygiene. *Lancet*, 2000;356:1307-12
40. **Po JL, Burke R, Sulis C, Carling PC.** Dangerous cows: an analysis of disinfection cleaning of computer keyboards on wheels. *American Journal of Infection Control*, 2009;37:778-80
41. **Reis RA.** Ignaz Semmelweis; the story of puerperal infection. *Quarterly Bulletin. Northwestern University (Evanston, Illinois). Medical School*, 1959;33(2):133-40
42. **Rosenbach FJ.** *Mikro-Organismen bei den Wund-Infections-Krankheiten des Menschen*. J.F. Bergman, editor. Wiesbaden, Germany. 1–122, 1884

43. **Rutala WA, Weber DJ.** Surface disinfection: should we do it? *Journal of Hospital Infection*, 2001;48(Supplement A):S64-8
44. **Sacar S, Turgut H, Kaleli I, Cevahir N, Asan A, Sacar M, Tekin K.** Poor hospital infection control practice in hand hygiene, glove utilization, and usage of tourniquets. *American Journal of Infection Control*, 2006;34:606-9
45. **Savoia P, Ranghino A, Fava P.** Characterization and Management of Cutaneous Side Effects Related to the Immunosuppressive Treatment in Solid Organ Recipients. *Current Drug Targets*. 2016 Jan 11. [Epub ahead of print]
46. **Schmidt MG, Attaway HH, Sharpe PA, John J Jr., Sepkowitz KA, Morgan A, Fairey SA, Singh S, Steed LL, Canteley JR, Freeman KD, Michels HT, Salgadof CD.** Sustained Reduction of Microbial Burden on Common Hospital Surfaces through Introduction of Copper. *Journal of Clinical Microbiology*, 2012;50(7): 2217–23
47. **Sigler V, Hensley S.** Persistence of mixed staphylococci assemblages following disinfection of hospital room surfaces. *The Journal of Hospital Infection*, 2013 Mar;83(3):253-6
48. **Sitzlar B, Deshpande A, Fertelli D, Kundrapu S, Sethi AK, Donskey CJ.** An environmental disinfection odyssey: evaluation of sequential interventions to improve disinfection of *Clostridium difficile* isolation rooms. *Infection Control and Hospital Epidemiology*, 2013;34:459-465
49. **Tamimi AH, Carlino S, Gerba CP.** Long-term efficacy of a self-disinfecting coating in an intensive care unit. *American Journal of Infection Control*, 2014;42:1178-81
50. **Universitätsmedizin Rostock.** Basishygieneordnung. *Händehygiene Stand Oktober 2014*
51. **Warnke P, Frickmann H, Ottl P, Podbielski A.** Nasal screening for MRSA: different swabs—different results! *PLoS One*, 2014;9:e111627 (b)
52. **Warnke P, Warning L, Podbielski A.** Some are more equal – A comparative study on swab uptake and release of bacterial suspensions. *PLoS One*. 2014;9:e102215 (a)
53. **Weber DJ, Anderson D, Rutala WA.** The role of the surface environment in healthcare-associated infections. *Current Opinion in Infectious Diseases*, 2013;26:338-44

54. **Wiemken TL, Curran DR, Pacholski EB, Kelley RR, Abdelfattah RR, Carrico RM, Ramirez JA.** The value of ready-to-use disinfectant wipes: Compliance, employee time, and costs. *American Journal of Infection Control*, 2014;42(3):329-30
55. **World Health Organisation.** Good hand hygiene by health workers protects patients from drug resistant infections. *Media centre of WHO webpage*, <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2014/hand-hygiene/en/>
56. **Wilson AP, Ostro P, Magnussen M, Cooper B, Keyboard Study Group.** Laboratory and in-use assessment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* contamination of ergonomic computer keyboards for ward use. *American Journal of Infection Control*, 2008;36:e19-25
57. **Wilson AP, Smyth D, Moore G, Singleton J, Jackson R, Gant V, Jeanes A, Shaw S, James E, Cooper B, Kafatos G, Cookson B, Singer M, Bellingan G.** The impact of enhanced cleaning within the intensive care unit on contamination of the near-patient environment with hospital pathogens: a randomized crossover study in critical care units in two hospitals. *Critical Care Medicine*, 2011;39:651-8
58. **Yun HC, Kreft RE, Castillo MA, Ehrlich GD, Guymon CH, Crouch HK, Chung KK, Wenke JC, Hsu JR, Spirk TL, Costerton JW, Mende K, Murray CK.** Comparison of PCR/Electron spray Ionization-Time-of-Flight-Mass Spectrometry versus Traditional Clinical Microbiology for active surveillance of organisms contaminating high-use surfaces in a burn intensive care unit, an orthopedic ward and healthcare workers. *BMC Infectious Diseases*, 2012;12:252-63